

FACULDADE DE MEDICINA
MESTRADO PROFISSIONAL EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL

AUDREY CRISTINA CINTRA

**EFEITOS DO EXTRATO DA POLPA DO MURICI NOS
PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E MARCADORES DE
ESTRESSE OXIDATIVO EM RATAS SAUDÁVEIS**

UNIVERSIDADE
FEDERAL
FLUMINENSE

NITERÓI
2023

AUDREY CRISTINA CINTRA

**EFEITOS DO EXTRATO DA POLPA DO MURICI NOS PARÂMETROS
ANTROPOMÉTRICOS E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO
EM RATAS SAUDÁVEIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Saúde Materno-Infantil. Área de Concentração: Atenção Integrada à Saúde da Mulher e da Criança.

Orientador: Profa. Dra. Manuela Dolinsky
Coorientadora: Profa. Dra. Verônica Salerno

Niterói – RJ
2023

Ficha catalográfica automática - SDC/BFM
Gerada com informações fornecidas pelo autor

C574e Cintra, Audrey
EFEITOS DO EXTRATO DA POLPA DO MURICI NOS PARÂMETROS
ANTROPOMÉTRICOS E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATAS
SAUDÁVEIS / Audrey Cintra. - 2023.
76 f.: il.

Orientador: Manuela Dolinsky.
Coorientador: Verônica Salerno.
Dissertação (mestrado profissional)-Universidade Federal
Fluminense, Faculdade de Medicina, Niterói, 2023.

1. Alimento funcional. 2. Saúde da mulher. 3. Fruta; uso
terapêutico. 4. Estresse oxidativo. 5. Produção
intelectual. I. Dolinsky, Manuela, orientadora. II. Salerno,
Verônica, coorientadora. III. Universidade Federal
Fluminense. Faculdade de Medicina. IV. Título.

CDD - XXX

Bibliotecário responsável: Debora do Nascimento - CRB7/6368

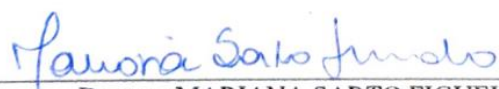
AUDREY CRISTINA CINTRA

**EFEITOS DO EXTRATO DA POLPA DO MURICI NOS PARÂMETROS
ANTROPOMÉTRICOS E MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO
EM RATAS SAUDÁVEIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Saúde Materno-Infantil. Área de Concentração: Atenção Integrada à Saúde da Mulher e da Criança

Aprovado em: 03 de abril de 2023

BANCA EXAMINADORA



Doutora MARIANA SARTO FIGUEIREDO
Universidade Federal Fluminense



Doutor JULIO BELTRAME DALEPRANE
Universidade Estadual do Rio de Janeiro



Doutora DENISE MARIE DELGADO BOUTS
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Niterói – RJ

2023

Dedicatória

Primeiramente aos meus pais que sempre foram minha base, ao meu marido que é incansável na tarefa de me incentivar e à minha família e amigos pela torcida. Aos pesquisadores brasileiros que, mesmo contra todas as probabilidades, insistem em produzir bons trabalhos.

Agradecimentos

A Deus, que com sua infinita graça colocou no meu caminho pessoas que me ajudaram durante esta jornada.

Ao meu parceiro, amigo e marido Dr. Ivisson Carneiro Medeiros da Silva, por ser meu maior fã e incentivador e pela paciência nesse período.

Aos meus pais Magda e Sergio, que são minha base e me deram as ferramentas para a batalha da vida.

Aos meus sogros, Marise e Ivan que me acolheram e se orgulham de cada conquista.

Aos meus irmãos, cunhadas, sobrinhos e amigos que entenderam minhas ausências e comemoraram as minhas presenças.

À Prof.^a. Dra. Manuela Dolinsky, por se disponibilizar na orientação deste projeto ao mesmo tempo que luta pela evolução e reconhecimento da carreira do nutricionista.

À Prof.^a. Dra. Verônica Salerno, por ceder seu tempo e os recursos de laboratório necessários mesmo em um período tão complexo.

Ao Prof. Dr. Anderson Teodoro Junger, por contribuir com o extrato e os recursos necessários para iniciar o projeto.

Ao Dr. Stephan Frankenfeld e Dr. Fábio Cahuê por todos os ensinamentos e paciência em todas as etapas do meu aprendizado no laboratório.

Aos parceiros de projeto das três Universidades UFF, UNIRIO e UFRJ, Raquel Martinez, Carolina de Oliveira Petra de Almeida (Carolzita), Gabriela de Queiroz (Gabi), Thuane Passos, e Tatiane Rodrigues, foi muito lindo ver isso acontecendo.

Aos amigos de classe, laboratório e funcionários da UFF.

Aos funcionários da UFRJ que de alguma forma conseguiram manter as atividades durante esse período tão difícil.

Ao Programa de Mestrado Profissional em Saúde Materno Infantil.

Às mulheres cientistas que chegaram nesse campo antes de mim e que sofreram tantos preconceitos para que possamos estar aqui hoje, donas do nosso espaço.

Aos animais de laboratório que tanto contribuem para o desenvolvimento da ciência.

E a todos que acreditaram e contribuíram para a realização desse projeto.

“A ciência e a vida cotidiana não podem e não devem ser separadas. A ciência dá uma explicação parcial para a vida. Na medida em que avança, é baseado em fato, experiência e experimento”.

Rosalind Franklin

Resumo

O fruto do murici (*Byrsonima crassifolia* e *B. verbascifolia*) espécies encontradas ampla e majoritariamente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, é rico em fibras e lipídios, minerais como cálcio, fósforo, ferro e é fonte de importantes antioxidantes como vitamina C, carotenoides como a luteína e a zeaxantina, compostos fenólicos como polifenóis, flavonoides e esteróis. Os alimentos fontes desses compostos têm sido alvo de inúmeras pesquisas por seu potencial como agentes não-farmacológicos e preventivos contra os efeitos do estresse oxidativo. Os danos provocados em nível celular pelo estresse oxidativo estão associados ao desenvolvimento e na fisiopatologia de várias doenças crônicas. As doenças crônicas estão relacionadas com a morte de mais de 60% das mulheres somente no Brasil. O objetivo deste estudo foi investigar se diferentes dosagens do extrato de murici são capazes de promover proteção antioxidante em ratas saudáveis. Ratas Wistar foram divididas em 4 grupos (n=14): Controle; e 3 grupos que receberam diariamente durante 14 dias dosagens diferenciadas dos extratos (GMU): 50mg/kg; 100mg/kg e 250mg/kg. Após este período, metade dos integrantes de cada grupo (n=7) foram submetidos ao teste de esforço máximo (GMU+TEM) imediatamente antes da eutanásia. O exercício agudo de alta intensidade foi utilizado para indução da produção de radicais livres e investigação do estresse oxidativo. As análises foram realizadas no plasma, fígado e músculos tibial anterior (MTA) e solear (MS). A massa corporal dos animais e a duração da sessão de exercícios não foram afetados pela suplementação do extrato em nenhuma das concentrações. Os marcadores de estresse oxidativo analisados pela medição da peroxidação lipídica através das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), pela quantificação dos hidroperóxidos lipídico pela oxidação do ferro pelo xilenol laranja (FOX) e pela medida da oxidação de proteínas (PC), os marcadores de resposta antioxidante estimados pela atividade das enzimas antioxidantes como a catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD), pela concentração de tióis proteicos totais (TIOL) e a capacidade antioxidante total (CAOT) não foram alteradas pelo TEM em nível plasmático e muscular. Os marcadores de lesão muscular medidos pela creatina quinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH) também não sofreram alterações. Contudo, o TBARS mostrou-se aumentado no fígado após o TEM, assim como as enzimas plasmáticas indicativas de lesão hepáticas como a transaminase pirúvica (TGP), transaminase oxalacética (TGO) e Gama Glutamil Transferase (GGT). A suplementação foi capaz de reduzir a PC no plasma e aumentar a CAOT no MS e no fígado dos animais não submetidos ao TEM. Nos animais suplementados que realizaram o TEM foi identificado aumento da SOD no plasma e da CAT no MTA, redução das enzimas TGO e GGT e aumento da CAOT no fígado e no MS. Contrário a nossas expectativas, a suplementação com o extrato do murici aumentou a hidroperoxidação lipídica no MTA dos animais submetidos ao TEM e reduziu a CAOT no plasma e no MTA de ambos os grupos. Os resultados sugerem que a administração oral do extrato do murici diminuiu o estresse oxidativo e aumentou a atividade de enzimas antioxidantes no plasma, aumentou a CAOT no fígado e MS, reduziu o dano hepático, mas induziu hidroperoxidação e redução da CAOT no plasma e no MTA.

Palavras-Chave: murici; *Byrsonima crassifolia*; *B. verbascifolia*; Estresse Oxidativo; Antioxidantes; Compostos Fenólicos

Abstract

The murici fruit (*Byrsonima crassifolia* and *B. verbascifolia*), a species widely and mostly found in the North and Northeast regions of Brazil, is rich in fibers, lipids, minerals such as calcium, phosphorus, iron and is a source of important antioxidants such as vitamin C, carotenoids such as lutein and zeaxanthin, phenolic compounds such as polyphenols, flavonoids and sterols. Food sources of these compounds have been the subject of numerous studies for their potential as non-pharmacological and preventive agents against the effects of oxidative stress. The damage caused by the oxidative stress at the cellular level is associated with the development and has been implicated in the pathology of various chronic diseases. Chronic diseases are related to the death of more than 60% of women in Brazil. The aim of this study was to investigate if different dosages of murici extract (EMU) are capable of promoting antioxidant protection in healthy female rats. Wistar female rats were divided into 4 groups (n=14): Control; and 3 groups supplemented daily at different dosages of extracts (GMU): 50 mg/kg; 100 mg/kg and 250 mg/kg for 14 days. After this period, half of the members of each group (n=7) were subjected to the maximum effort test (TEM) immediately before euthanasia. Acute high-intensity exercise was used as exercise-induced oxidative stress. Analyzes were performed on plasma, liver and anterior tibial (MTA) and soleus (MS) muscles. Any extract concentration affected the weight of the animals and the duration of the exercise session. The oxidative stress markers analyzed by measuring lipid peroxidation with thiobarbituric acid reactive substance (TBARS), and quantification of lipid hydroperoxides with ferrous Oxidation/Xylenol (FOX) and measuring of protein oxidation (PC), the antioxidant enzymes activity such as catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD), the measurement of total protein reduced thiol (THIOL) and the total antioxidant capacity (CAOT) were not altered by TEM at plasma and muscle levels. Muscle damage markers as creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) also did not change. However, TEM increased TBARS in the liver, as well as plasma markers of liver damage such as pyruvic transaminase (TGP), oxaloacetic transaminase (TGO) and Gamma Glutamyl Transferase (GGT). The supplementation in animals not subjected to TEM reduced PC in plasma and increase CAOT in MS and liver. In TEM groups the EMU increased SOD in plasma and CAT in MTA, reduced TGO and GGT enzymes, and increased CAOT in the liver and MS. Contrary to our expectations, supplementation with murici extract increased lipid hydroperoxidation in MTA in TEM groups and reduced CAOT in plasma and MTA in both groups. The results suggest that oral administration of murici extract decreased oxidative stress and increased plasma antioxidant enzyme activity, increased CAOT in liver and MS, reduced liver damage, but induced hydroperoxidation and reduced CAOT in plasma and MTA.

Keywords: murici; *Byrsonima crassifolia*; *B. verbascifolia*; Oxidative stress; Antioxidants; Phenolic Compounds

Lista de Figuras

FIGURA 1 – FRUTOS DO MURICI	21
FIGURA 2 – FORMAÇÃO DAS ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E NITROGÊNIO E AÇÃO DAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES.	28
FIGURA 3 – CLASSIFICAÇÃO DOS FITOQUÍMICOS.....	30
FIGURA 4 - MÚSCULOS TIBIAL ANTERIOR E SOLEAR EM MODELO ANIMAL.	35
FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO DAS FIBRAS TIPO 1 – CONTRAÇÃO LENTA (MÚSCULO SOLEAR) E FIBRAS DO TIPO 2 – CONTRAÇÃO RÁPIDA (MÚSCULO TIBIAL ANTERIOR).	36
FIGURA 6 - IMAGEM DA TELA DO PROGRAMA G*POWER 3.1 APÓS A DEFINIÇÃO DOS PARÂMETROS PARA O CÁLCULO AMOSTRAL.	38
FIGURA 7 – EXTRATO DO MURICI DILUÍDO.....	39
FIGURA 8 – DESENHO DO MODELO EXPERIMENTAL DO ESTUDO.....	40
FIGURA 9 – VARIAÇÃO DO PESO DOS ANIMAIS EM GRAMAS. GMU - GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI; GMU+EM - GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO; GRUPOS: CONTROLE; 50MG/KG; 100MG/KG E 250MG/KG (N=7).....	49
FIGURA 10 – MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO. PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA: TBARS NO PLASMA (A) E FÍGADO (B). CONTROLE E GMU (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI). CONTROLE+EM E GMU+EM (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO)	51
FIGURA 11– MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO. PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA: FOX NO PLASMA (A), FÍGADO (B) E MÚSCULOS TIBIAL ANTERIOR (MTA) (C) E SOLEAR (MS) (D). CONTROLE E GMU (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI). CONTROLE+EM E GMU+EM (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO). DOSAGENS: CONTROLES; 50MG/KG; 100MG/KG E 250MG/KG (N=7). #p<0,05 VERSUS CONTROLE+EM.	53
FIGURA 12 – MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO. OXIDAÇÃO DE PROTEÍNAS: PROTEÍNA CARBONILADA NO PLASMA (A). CONTROLE E GMU (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI). CONTROLE+EM E GMU+EM (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO). DOSAGENS: CONTROLES; 50MG/KG; 100MG/KG E 250MG/KG (N=7). *p<0,05 VERSUS CONTROLE..	54
FIGURA 13 – ENZIMAS INDICATIVAS DE LESÃO TECIDUAL. MARCADORES DE LESÃO HEPÁTICA: TGO/AST (A); TGP/ALT (B) E GGT (C). MARCADORES DE LESÃO MUSCULAR: LDH (D); CK (E). CONTROLE E GMU (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI). CONTROLE+EM E GMU+EM (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO). DOSAGENS: CONTROLES; 50MG/KG; 100MG/KG E 250MG/KG (N=7). *p<0,05 VERSUS CONTROLE E #p<0,05 VERSUS CONTROLE+EM.	56
FIGURA 14 – AVALIAÇÃO DA DEFESA ORGÂNICA CONTRA O DANO OXIDATIVO.. MEDIDA DOS GRUPOS TIÓIS NÃO-PROTEICOS REDUZIDOS: NO PLASMA (A), FÍGADO (B) E MÚSCULOS TIBIAL ANTERIOR (MTA) (C) E SOLEAR (MS) (D). CONTROLE E GMU (GRUPO	

SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI). CONTROLE+EM E GMU+EM (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO). DOSAGENS: CONTROLES; 50MG/KG; 100MG/KG E 250MG/KG (N=7)..... 59

FIGURA 15 – AVALIAÇÃO DA DEFESA ORGÂNICA CONTRA O DANO OXIDATIVO. MEDIDA DA ATIVIDADE DA ENZIMA CATALASE NO PLASMA (A), FÍGADO (B) E MÚSCULOS TIBIAL ANTERIOR (MTA) (C) E SOLEAR (MS) (D). CONTROLE E GMU (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI). CONTROLE+EM E GMU+EM (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO). DOSAGENS: CONTROLES; 50MG/KG; 100MG/KG E 250MG/KG (N=7). #P<0,05 VERSUS CONTROLE+EM. 60

FIGURA 16 – AVALIAÇÃO DA DEFESA ORGÂNICA CONTRA O DANO OXIDATIVO. MEDIDA DA ATIVIDADE DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) NO PLASMA (A), FÍGADO (B) E MÚSCULOS TIBIAL ANTERIOR (MTA) (C) E SOLEAR (MS) (D). CONTROLE E GMU (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI). CONTROLE+EM E GMU+EM (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO). DOSAGENS: CONTROLES; 50MG/KG; 100MG/KG E 250MG/KG (N=7). #P<0,05 VERSUS CONTROLE+EM. 61

FIGURA 17– CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAOT) MEDIDA NO PLASMA (A), NO FÍGADO (B) E NOS TECIDOS MUSCULARES TIBIAL ANTERIOR (C) E SOLEAR (D). CONTROLE E GMU (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI). CONTROLE+EM E GMU+EM (GRUPO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DO MURICI E SUBMETIDO AO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO). DOSAGENS: CONTROLES; 50MG/KG; 100MG/KG E 250MG/KG (N=7). *P<0,05 VERSUS CONTROLE E #P<0,05 VERSUS CONTROLE+EM..... 62

Lista de Tabelas

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DE MACRONUTRIENTES, MINERAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO DA POLPA DO MURICI.	22
TABELA 2 - A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO E COMPOSIÇÃO DOS CAROTENOIDES DO EXTRATO ETANÓLICO SECO LIOFILIZADO DA POLPA DO MURICI (EXEM).....	23
TABELA 3 - TEMPOS MÉDIOS EM SEGUNDOS DE DURAÇÃO DO TESTE DE ESFORÇO MÁXIMO .	50

Lista de Abreviaturas e siglas

ANOVA – Análise de variância
BHT - butil-hidroxi-tolueno
CAOT - capacidade antioxidante total
CAT - catalase
CEUA – Comitê de Ética de uso de animais
CK - creatina quinase
DAC - Doenças do Aparelho Circulatório
DANT - Doenças e agravos não transmissíveis
DCNT – Doenças Crônicas não-transmissíveis
DNA - ácido desoxirribonucleico
DNA - ácido desoxirribonucleico
DNPH - 2,4-dinitrophenylhydrazine
DPPH - 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DPPH - 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DTNB - 5,5-ácido ditionitrobenzóico
EO - Estresse oxidativo
ER - Espécies reativas
ERN - Espécies Reativas do Metabolismo do Nitrogênio
ERO - Espécies Reativas do Metabolismo do Oxigênio
ExEM - extrato etanólico seco liofilizado da polpa do murici
FOX - Oxidação do ferro pelo xilenol laranja
GGT - Gama Glutamil Transferase
GMU - grupo suplementado com extrato do murici;
GMU+EM - grupo suplementado e submetido ao teste de esforço máximo
GPx – glutathione peroxidase
GSH - glutathione reduzida
GSSH – dissulfeto de glutathione
LABEMMol - Laboratório de Bioquímica do Exercício e Motores Moleculares
LDH - lactato desidrogenase
LPO - lipoperoxidação
LPO - Lipoperoxidação lipídica
MDA - malonaldeído
MS - Músculo solear
MTA - músculo tibial anterior
NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NOX - NADPH oxidase

OMS - Organização Mundial da Saúde

PC – proteínas carboniladas

PR – peroxirredoxina

RL - Radicais Livres

SOD - superóxido dismutase

TBARS - Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico

TCA – ácido tricloroacético

TEM - Teste de esforço máximo

TGO/AST - transaminase oxalacética

TGP/ALT - transaminase pirúvica

TNF- α - fator de necrose tumoral

TR – tiorredoxina redutase

TRx – tiorredoxina

UFF – Universidade Federal Fluminense

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

UNIRIO – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Sumário

Dedicatória.....	5
Agradecimentos	6
Resumo	8
Abstract.....	9
Lista de Figuras.....	10
Lista de Tabelas	12
Lista de Abreviaturas e siglas.....	13
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. JUSTIFICATIVA.....	19
3. OBJETIVOS.....	20
4. REVISÃO DA LITERATURA	21
4.1. Murici	21
4.2. Radicais livres e defesa antioxidante	24
4.3. Antioxidantes dietéticos.....	29
4.4. Alimentos Funcionais	32
4.5. Exercício como modelo de indução do estresse oxidativo.....	33
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
5.1. Parâmetros Antropométricos	39
5.2. Marcadores de Estresse Oxidativo	42
5.3. Avaliação da defesa orgânica contra o dano oxidativo.....	45
5.4. Análises estatísticas	47
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
6.1. Parâmetros Antropométricos	48
6.3. Marcadores de Estresse Oxidativo	50
6.4. Avaliação da defesa orgânica contra o dano oxidativo.....	58
7. CONCLUSÃO.....	67
8. PRODUTO(S) GERADO PELO ESTUDO	68
8.2. Artigos publicados	68
8.3. Artigo submetido em revista científica.....	68
8.4. Curso de curta duração	68
8.5. Oficina tendo como público mulheres atendidas no Ambulatório de Dietética e Alimentos Funcionais – UFF.	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

1. INTRODUÇÃO

A ingestão de frutas e produtos naturais compostos de frutas integrais pode trazer benefícios além da nutrição básica pela ampla distribuição de compostos bioativos presentes nesses alimentos. O Guia Alimentar para a População Brasileira do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014) aponta como base de uma alimentação nutricionalmente balanceada o consumo de alimentos in natura e minimamente processados como as frutas, legumes e verduras por trazerem grande variedade de nutrientes e compostos bioativos.

O Brasil é um país de vasta biodiversidade e muitas frutas são encontradas nesse território com diferentes características químicas. O uso de plantas e frutas com propriedades medicinais é, há anos, a base para tratamentos advindos do conhecimento popular em diversas regiões e culturas no país (NERI-NUMA et al., 2018). A diversidade química desses alimentos e produtos, fontes, principalmente, de antioxidantes naturais distintos, aumentam o potencial de encontrar compostos que atuem de forma benéfica, prevenindo e atuando como coadjuvantes no tratamento de diferentes doenças, assim, com grande potencial econômico para os setores alimentício, cosmético e farmacêutico, justificando os estudos nessa área (GU et.al., 2013).

O murici (*Byrsonima crassifolia* e *B. verbascifolia*), espécies encontradas ampla e majoritariamente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil e com escassa literatura sobre seus compostos bioativos, é uma fruta rica em fibras e lipídios, além de minerais como cálcio, fósforo, ferro e como fonte de vitaminas A e C (ANICETO et al., 2017). Entre os compostos bioativos encontrados em estudos com essa fruta, destaca-se a presença de compostos fenólicos e, principalmente, de carotenoides. Essas substâncias garantem potencial antioxidante interessante, sendo associadas também às atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias (TIBURSKI et al., 2011).

Muitos benefícios já foram relacionados às atividades antioxidante e anti-inflamatória dos compostos bioativos e foram descritos na literatura, sendo associados também ao controle da obesidade, hipertensão, Diabetes Mellitus e síndrome metabólica (CASTANHO et al., 2013; DEVALARAJA; JAIN; YADAV, 2011).

As doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT) se caracterizam como um dos maiores problemas globais de saúde e são responsáveis por muitas mortes e pela diminuição da qualidade de vida. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as DCNT são

responsáveis por 70% de todas as mortes no mundo (WHO, 2015) e metade das mortes entre as mulheres (OMS, 2011).

Com a redução das mortes de mulheres por doenças ligadas à maternidade e doenças infecciosas e o crescimento das DCNT em países de alta e média renda, as políticas de saúde da mulher vêm buscando uma alteração de diretrizes, ampliando o conceito de saúde da mulher para uma política de saúde integral. Pelo importante papel de principal membro cuidador da família e por compor mais da metade da população brasileira, evitar a morte prematura de mulheres apresenta um papel essencial na sociedade e por isso, é um segmento social importante para a elaboração das políticas de saúde (BRASIL, 2004).

As mulheres apresentam fatores agravantes para o risco de desenvolvimento e morte por DCNT. Os estudos com foco no gênero feminino e voltados para outras questões além da saúde reprodutiva são relativamente recentes. Soma-se a isso, dificuldades econômicas no acesso aos tratamentos de saúde, considerando que as mulheres recebem salários inferiores aos homens (IBGE, 2023). Mesmo no momento da busca por tratamentos, o viés de gênero afeta às decisões dos profissionais que realizam menos questionamentos durante a anamnese e menos exames diagnósticos em busca de doenças cardiovasculares (BONITA; BEAGLEHOLE, 2014).

O conceito de que as doenças crônicas são doenças mais relacionadas com o sexo masculino está sendo reformulado perante as evidências de que a ocorrência de derrames e doenças cardiovasculares são similares em homens e mulheres. Além disso, os números absolutos de mortes por DCNT em homens (18,4 milhões) e mulheres (16,2 milhões) é bem similar (BONITA; BEAGLEHOLE, 2014).

O declínio do estrogênio na menopausa é um fator fisiológico intimamente ligado com o aumento do risco de desenvolver DCNT. Essa redução está relacionada com aumento da gordura abdominal subcutânea e visceral que, por sua vez, está relacionada com o desenvolvimento da Diabetes tipo 2; dislipidemia; doenças cardiovasculares, demência, osteoporose e câncer de mama (LOBO et al., 2014)

As neoplasias, doenças endócrinas nutricionais e metabólicas e as doenças do aparelho circulatório (DAC), que englobam cânceres, diabetes mellitus, doenças hipertensivas, doenças isquêmicas do coração, infarto agudo do miocárdio, aterosclerose entre outras, foram registradas como causa de 45,5% das mortes de mulheres entre os anos

de 2000 e 2019 no Brasil segundo os dados de estatísticas vitais disponíveis no DATASUS (BRASIL, 2020).

As DCNT estão relacionadas com doenças ligadas ao estilo de vida da população, intimamente ligadas com fatores como sedentarismo, dietas ricas em energia, açúcar simples e gorduras saturadas e pobres em nutrientes, privação de sono, tabagismo e organismo constantemente inflamado e com um desequilíbrio fisiológico do indivíduo. O sistema imune é o responsável por manter o organismo em homeostase e é responsável por mediar uma resposta para eliminar do organismo qualquer material não identificado, células doentes e resíduos comuns do metabolismo celular (KOTAS; MEDZHITOV, 2015).

A inflamação é a resposta imune esperada do organismo em situações de lesão e infecção, com desencadeamento de moléculas pró-inflamatórias, como as citocinas e radicais livres, e moléculas de sinalização celular que direcionam a resposta ao local da lesão (NOLAND, 2018).

Os radicais livres, ou espécies reativas do metabolismo do oxigênio (EROs) e do nitrogênio (ERNs), conceito proposto por Ferreira e Matsubara (1997), atuam como mediadores da transferência de elétrons em várias reações bioquímicas e trata-se de um processo fisiológico e contínuo, mas a sua produção excessiva pode levar ao dano oxidativo. Essa produção exacerbada desencadeia o mecanismo de defesa antioxidante que reduz os níveis das espécies reativas reduzindo os danos celulares. O estresse oxidativo (EO) decorre do desequilíbrio entre a produção das espécies reativas e esse mecanismo de defesa antioxidante (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

2. JUSTIFICATIVA

As frutas ricas em antioxidantes têm recebido especial atenção por seus potenciais benefícios à saúde, principalmente como agentes não-farmacológicos e preventivos contra doenças crônicas resultantes dos processos de envelhecimento e estilo de vida. A identificação das principais fontes alimentares, formas de consumo e efeitos no organismo baseados em evidências são ferramentas aos profissionais nutricionistas para fomentar as orientações individuais e para populações.

Além disso, em se tratando de prevenção e redução de riscos à saúde de mulheres, é importante pensar em agentes acessíveis e economicamente viáveis. Em recente levantamento da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua (Pnad), as mulheres figuram com renda per capita 22% menor que os homens e representam mais de 54% dos desempregados no Brasil (IBGE, 2020).

A extensão territorial do Brasil comporta diversos tipos de solos com incontável variedade de frutas e diversidade de nutrientes e compostos bioativos, dentre eles os antioxidantes. Pesquisar frutos além dos convencionalmente utilizados, amplia a possibilidade de conhecimento de novas fontes de antioxidantes com uma capacidade antioxidante muitas vezes superior. O fruto do muricizeiro atende à lógica do sistema alimentar sustentável, pois trata-se de uma fonte alimentar de fácil acesso, de cultivo predominantemente familiar, que não exige o uso de defensivos agrícolas e com potencial econômico. Tem ampla distribuição na região amazônica e de cerrado brasileiras, com potencial de favorecer o estado nutricional e de saúde das populações (ARAÚJO et al., 2018; JACOB e ARAÚJO, 2020).

Assim, este trabalho tem por finalidade fornecer dados para a comunidade científica e para a instrumentalização da prática diária dos profissionais, com o intuito de elucidar o potencial do consumo do extrato liofilizado da polpa da fruta do Murici, produto altamente concentrado em compostos bioativos e caracterizado quanto ao teor destes compostos, em promover a proteção antioxidante em ratas. São escassos os trabalhos com o uso do extrato do fruto *in vivo*. Além disso, atualmente não há estudos experimentais com modelo indutor de estresse oxidativo que utilize o extrato dessas frutas, evidenciando o caráter inédito da pesquisa.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Verificar se diferentes dosagens do extrato de murici são capazes de promover a proteção antioxidante em ratas submetidas a exercício físico de esforço máximo.

3.2 Específicos

- Divulgar e incentivar o consumo de frutos não convencionais brasileiros com composição nutricional e de compostos bioativos notáveis e muitas vezes superiores aos frutos convencionais;
- Avaliar se as diferentes dosagens do extrato do murici:
 - alteram a massa corporal das ratas;
 - são capazes de modificar a duração do teste de esforço máximo (TEM);
 - alteram os marcadores de estresse oxidativo no plasma, fígado e músculos das ratas submetidas ou não ao TEM;
 - promovem efeito protetivo a danos à membrana celular e a oxidação de proteínas nos grupos submetidos ou não ao TEM;
 - reduzem a lesão tecidual nos diferentes grupos experimentais;
 - modificam a capacidade antioxidante total e a mensuração das enzimas antioxidantes nos diferentes grupos experimentais;
 - variam a resposta antioxidante no plasma, fígado e músculos das ratas submetidas ou não ao TEM.

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1. Murici

O murici é o fruto do muricizeiro (*Byrsonima crassifolia*. e *B. verbascifolia*), árvores nativas do Brasil, de clima essencialmente tropical, com altura entre 2-6m e podem ser encontradas em outros países como México, Bolívia e Paraguai. No Brasil, ocorre nas regiões Norte (nos Estados do Amapá, Pará, Roraima e Tocantins), Nordeste (Bahia, Maranhão, Pernambuco e Piauí) e Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), com maior frequência e abundância em ecossistemas de caatinga, cerrado e lavrado (DE ARAÚJO et al., 2018).

Além do consumo do fruto, a população indígena já usa outros componentes da árvore, como troncos e folhas, para a fabricação de fitoterápicos há anos, como antidiarreico; antimicrobianos, antiemético, entre outros (ALMEIDA et.al., 1998).

O muricizeiro pertence à grande família *Malpighiácea* e o gênero *Byrsonima* possui 150 espécies (GARRITANO; JORGE; GULIAS, 2010) sendo as mais comumente encontrada no Brasil a *B. crassifolia* (SILVA, 2013) e a *B. verbascifolia* (DE ARAÚJO et al., 2018). As árvores produzem entre 100 e 500 frutos, entre os meses de dezembro a abril (DE ARAÚJO et al., 2018). A polpa dos frutos é comumente consumida no preparo de sucos, geleias e sorvetes.



Figura 1 – Frutos do murici

Fontes: Foto de Pedro Humberto/Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira. Foto de Wanice Nascimento/ Embrapa, 2016.

A composição nutricional da polpa dos frutos, assim como seus compostos bioativos e atividade antioxidante estão sendo objeto de estudo em diversas pesquisas (Tabela 1).

Hamacek, Martino e Pinheiro-Sant'ana (2014) avaliaram a composição de macronutrientes da polpa reforçando o alto teor nutritivo com quantidades significativas de caloria, lipídios e fibras. Marin, Siqueira e Arruda (2009) quantificaram os minerais de 18 frutas do cerrado brasileiro e dentre elas o murici, o qual apresentou grandes quantidades de cálcio, ferro e magnésio. Aniceto et al. (2021) encontraram altos teores de compostos fenólicos e quantidade de vitamina C superior ao taperebá, outra fruta do cerrado. Apesar de no referido estudo a atividade antioxidante da polpa do murici ter sido menor que a encontrada no taperebá, Stafussa et al. (2018) compararam o murici com outras 44 frutas e encontraram uns dos mais altos teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

Tabela 1 - Composição de macronutrientes, minerais e atividade antioxidante in vitro da polpa do murici.

Elementos analisados (por 100g)	Murici (<i>B. crassifolia</i> e <i>B. verbascifolia</i>)
Umidade (g) **	68,3 - 71,58
Energia (Kcal) **	81,23 - 163,7
Carboidratos (g) **	7,47
Proteínas (g) **	1,26
Lipídios totais (g) **	5,13
Fibras (g) **	13,58
Ca (mg) **	45,6
Zn (mg) **	0,2
Cu (mg) **	0,1
Fe (mg) **	1,9
Mg (mg) **	23,9
Vitamina C (mg) **	58,88±1,63
Compostos Fenólicos Totais (mg de Equivalentes de ácido gálico) *	307,52 ± 19,73
Compostos Flavonoides Totais (µg de Quercetina) *	17487±176

DPPH (% reduzido) *	52,94±2,41
FRAP (µmol FE ₂ SO ₄) *	738±98
ABTS (µmol trolox) *	7949±335
ORAC (µmol trolox) *	31254±8295

Fonte: adaptado de Hamacek, Martino e Pinheiro-Sant'ana, 2014; Marin, Siqueira e Arruda, 2009 e Aniceto *et al.*, 2021. *Análise realizada no extrato obtido a partir da polpa; **Análise realizada na polpa

As altas taxas de atividade antioxidante podem ser explicadas pois, além de rica em vitamina C, Borges *et al.* (2022) encontraram altas doses de carotenoides totais e quantidades razoáveis de tocoferóis quando comparadas com outras 9 espécies de frutas do cerrado. Gordon *et al.* (2011) identificaram mais de 19 tipos de compostos fenólicos na polpa do murici entre eles os galotaninos, galatos de ácido quínico, proantocianidinas e derivados da quercetina, além de 5 compostos identificados apenas como derivados do ácido gálico. Dentre os 13 carotenoides identificados, Mariutti, Rodrigues e Mercadante (2013) destacam que as xantofilas representam 94% dos carotenoides, sendo a luteína o principal representante, seguido da zeaxantina.

Esses resultados condizem com os resultados obtidos após a análise do extrato etanólico liofilizado do murici que foi utilizado no presente trabalho, conforme tabela 2 (PAIM, 2019).

Tabela 2 - A atividade antioxidante *in vitro* e composição dos carotenoides do extrato etanólico seco liofilizado da polpa do murici (ExEM).

Análises	Resultados extrato etanólico seco liofilizado da polpa do murici (média e desvio padrão)
DPPH (µmol Trolox/g)	1084,83±96,97
ABTS (µmol Trolox/g)	3750,65±175,38
FRAP (µmol de sulfato ferroso/g)	4471,77±560,87
ORAC (µmol Trolox/g)	98972,03±7925,54
Compostos fenólicos totais (mg de ácido gálico/100g)	1866,30±427,62
Carotenoides Totais (µg/g)	86,30±8,82
Luteína (µg/g)	23,39±1,41

Zeaxantina ($\mu\text{g/g}$)	5,20 \pm 1,02
Zeionoxantina ($\mu\text{g/g}$)	1,92 \pm 0,21
β -criptoxantina ($\mu\text{g/g}$)	1,32 \pm 0,34
α -caroteno ($\mu\text{g/g}$)	0,48 \pm 0,11
β -caroteno ($\mu\text{g/g}$)	4,61 \pm 1,62

Fonte: Paim, 2019.

Considerando os achados citados acima, algumas pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de avaliar se a atividade antioxidante destas frutas se traduz em efeitos protetivos às doenças crônicas. O extrato hidroalcolico da polpa da fruta apresentou propriedade quimioterapêutica e foi capaz de inibir o crescimento e promover a morte em culturas de células ovarianas cancerígenas (Souza et al., 2019). O extrato da fruta também se mostrou promissor em reverter efeitos deletérios no cérebro de animais suplementados com 150 e 300mg/kg/ dia, apresentando melhoras nos marcadores de estresse oxidativo e defesa antioxidante no tecido cerebral (Sousa et al, 2018).

4.2. Radicais livres e defesa antioxidante

Oxigênio é essencial para os seres aeróbios, mas é potencialmente um radical livre. Os radicais livres (RL) são moléculas instáveis que possuem um ou mais elétrons desemparelhados na sua última camada (HALLIWELL;GUTTERIDGE, 2007) podendo ganhar ou perder elétrons, provocando ou resultando de reações de óxido-redução.

Os RL podem ser gerados a partir de fontes exógenas como radiação UV, nuclear, ultrassom, alimentos, drogas, xenobióticos e toxinas e de fontes endógenas, como: pelo metabolismo mitocondrial e citoplasmático; por produção enzimática direta (como pela óxido nítrico sintase) ou indireta (por exemplo, ativação da xantina oxidase); por leucócitos no combate à organismos invasores; e na fisiopatologia de diversas doenças (KOHEN; NYSKA, 2002; DEMIRCI-ÇEKIÇ et al., 2022).

A respiração celular, que ocorre na mitocôndria, e vários sistemas enzimáticos como a xantina oxidase e a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase (NOX), enzima transportadora de elétrons da membrana celular, geram radicais livres através da redução do oxigênio, sendo as NOX apontadas por estudos recentes como apresentando

papel fundamental como fonte das espécies reativas de oxigênio (EROs) (POWERS; RADAK e JI, 2016; LIGUORI et al., 2018).

As EROs são intermediários, altamente oxidantes, formados como resultado das reações necessárias de redução do oxigênio, como os radicais: superóxido (O_2^-) considerado pouco reativo; hidroperoxila (HO_2^-) envolvido na destruição de membranas celulares; hidroxila (OH^-) com maior potencial reativo e que uma vez formado, o organismo não possui mecanismos de defesa; e as moléculas não radicalares, com grande potencial de gerar radicais livres apesar de não possuírem elétron desemparelhado, como: o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que apresenta alto potencial reativo por participar da formação de OH^- ; e o oxigênio singlete (1O_2), uma forma excitada do oxigênio que reage com um grande número de moléculas biológicas, incluindo lipídios da membrana, iniciando processos de peroxidação (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Na mitocôndria, durante o processo de geração de energia pela cadeia transportadora de elétrons, o oxigênio é utilizado como acceptor final de elétrons, sendo em sua maior parte, reduzido à água, contudo, uma pequena parte é reduzida na forma univalente, gerando o radical superóxido (O_2^-), sendo esse também o radical formado pela NADPH oxidases que utiliza o oxigênio como acceptor de elétrons na função de transferir elétrons através das membranas celulares e pela xantina oxidase, na conversão da hipoxantina em xantina e desta em ácido úrico (BARBOSA et al., 2010; KOHEN; NYSKA, 2002). A dismutação O_2^- , catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD), é a principal fonte do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, ocorre a reação do H_2O_2 com os íons ferro e cobre e geração do radical OH^- . Esse radical pode causar inativação ou mutações no DNA - ácido desoxirribonucleico - (com modificações das bases e quebras das fitas), carbonilação das proteínas gerando danos e mudança conformacional com perda da função fisiológica e inativação de enzimas e da membrana celular, levando a célula à morte por apoptose (BARBOSA et al., 2010).

O radical hidroxila é o principal iniciador da lipoperoxidação dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas celulares, através da retirada do átomo de hidrogênio com geração de hidroperoxídeos lipídicos (LOOH), que na presença de íons ferro são convertidos nos radicais alcóxila (LO^-) e peróxila (LO_2^-) responsáveis por iniciar novas cadeia de reações (FORMAN; ZHANG, 2021).

As EROs não são as únicas espécies reativas oxidantes no corpo humano, o radical óxido nítrico (NO^\cdot) é normalmente metabolizado em produtos estáveis como nitrito e nitrato e está envolvido com a regulação da vasodilatação, sinalização intracelular e resposta imunológica, no entanto em presença do superóxido O_2^\cdot gera espécies reativas de nitrogênio (ERNs) como o peroxinitrito (ONOO^-) precursor do ácido peroxinitroso (HONO_2) que é instável e produz o dióxido de nitrogênio (NO_2^\cdot) e OH^\cdot . O radical OH^\cdot pode reagir com quase todas as moléculas orgânicas, o NO_2^\cdot , apesar de um oxidante menos agressivo, pode também oxidar lipídios e proteínas (BARBOSA et al., 2010; HALLIWELL, 2015; FORMAN; ZHANG, 2021). As reações de formação de algumas EROs e das ERNs estão representadas na figura 2.

O aumento das EROs e ERNs induz uma cascata de sinalização com aumento da expressão gênica para a produção de enzimas antioxidantes esse é um processo fisiológico de manutenção do equilíbrio entre a produção de substâncias oxidantes e consequente produção de compostos e enzimas antioxidantes, que compõem o balanço redox. As reações redox controlam vários aspectos da vida biológica (SIES, 2020).

Alguns radicais livres, como H_2O_2 , NO^\cdot e O_2^\cdot , quando produzidos de maneira moderada, participam de processos fisiológicos como: regulação da pressão sanguínea; resposta imunológica na eliminação de microorganismos por fagócitos; produção de hormônios; segundo mensageiro intracelular participando da regulação da expressão gênica e diferenciação celular, regulador de resposta inflamatória com ativação do fator de necrose tumoral ($\text{TNF-}\alpha$). O papel sinalizador das EROs e ERNs está envolvido com o processo de adaptação aos exercícios físicos quando estes são realizados de maneira moderada e constante, por exemplo. (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2015; FORMAN et al., 2010).

O desequilíbrio do balanço redox ocorre quando há aumento das espécies reativas ou quando há redução de um ou mais mecanismos de defesa antioxidantes, levando a interrupção da sinalização redox. A ação das espécies reativas nas macromoléculas celulares afeta sua estrutura, causando danos que podem levar à morte celular por necrose, esses danos são conhecidos por estresse oxidativo. O estresse oxidativo constante pode levar ao desenvolvimento ou agravamento de doenças crônicas (SIES, 2020; HALLIWELL, 2012).

O sistema de defesa antioxidante é composto por: agentes catalíticos, como as enzimas, que removem as espécies reativas; agentes que diminuem a formação de EROs, por exemplo, reduzindo a disponibilidades dos pró-oxidantes como os íons ferro e cobre; agentes

que são oxidados pelas EROs em preferência às biomoléculas, por exemplo, os antioxidantes alimentares e os antioxidantes endógenos não-enzimáticos, como o ácido úrico e a glutathiona (GSH); e por mecanismos de reparo e regeneração das estruturas biológicas (DEMIRCI-ÇEKIÇ et al., 2022).

Os antioxidantes são capazes de reagir com as EROs e ERNs, doando ou compartilhando elétrons e ainda assim permanecerem estáveis, impedindo ou diminuindo o ataque oxidativo aos compostos biológicos (APAK, 2019).

A função das enzimas do sistema antioxidante funciona em sinergismo, sendo que a superóxido-dismutase (SOD) realiza a dismutação do superóxido com formação de peróxido de hidrogênio, como citado anteriormente. Alternativamente à reação com íons metálicos com geração de hidroxilas, o H_2O_2 , pela ação das enzimas catalase (CAT), da glutathiona-peroxidase (GPx) e da peroxirredoxina (PR), gera água e oxigênio. A ação oxidante da GPx, que utiliza a glutathiona (GSH) como doador de elétrons, gera o dissulfeto da glutathiona ou glutathiona oxidada (GSSG). Para a manutenção do ambiente redutor intracelular a razão entre glutathiona reduzida e oxidada (GSH/GSSG) deve ser mantida em níveis altos, assim, a glutathiona-redutase converte o GSSG em GSG, regenerando à sua forma reduzida (GSH), o NADPH atua como cofator da reação (Figura 2) (VAZIRI et al., 2003; ROVER et.al., 2001). Recentemente, a peroxirredoxina (PR) foi apontada como a principal enzima envolvida no controle do peróxido de hidrogênio nas células. De forma similar à GSH, a PR reduz o H_2O_2 através da oxidação dos grupamentos tióis (-SH) da proteína tiorredoxina (TRX) com formação de um dissulfeto da proteína e água. Para a manutenção do ciclo catalítico, os grupos tióis da TRX são regenerados pela tiorredoxina redutase (TR) com auxílio do NADPH (HALLIWELL, 2015).

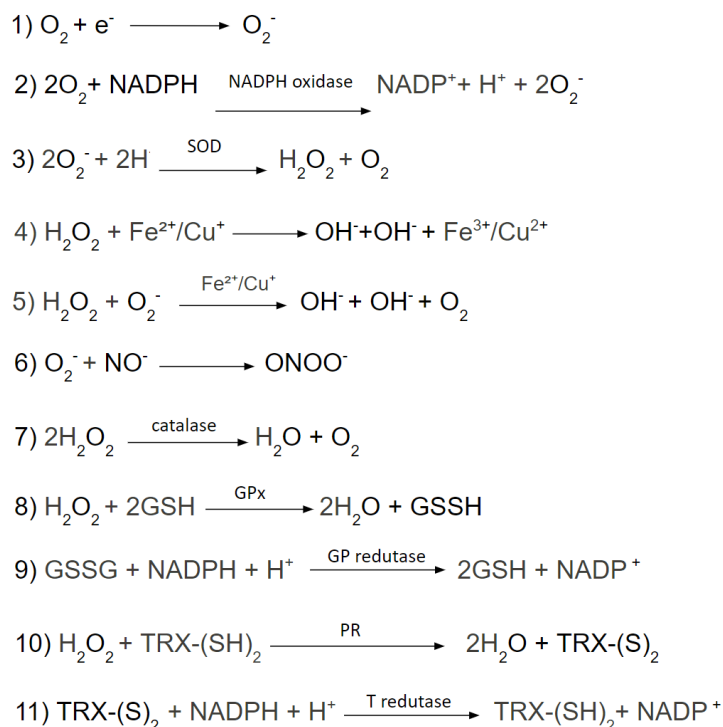


Figura 2 – Formação das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e ação das enzimas antioxidantes.

- 1) Geração do radical superóxido (O_2^-) pela adição de um elétron a uma molécula de oxigênio (O_2)
- 2) Oxidação do oxigênio pela enzima NADPH oxidase com formação do superóxido
- 3) Conversão do superóxido em peróxido de hidrogênio catalisada pela superóxido-dismutase
- 4) Reação de Fenton: Reação do peróxido de hidrogênio com os íons ferro e cobre com formação de hidroxila
- 5) Reação de Haber-Weiss: Reação do peróxido de hidrogênio e do oxigênio catalisada pela presença dos íons ferro e cobre com formação da hidroxila
- 6) Espécies reativas do nitrogênio: superóxido reage com óxido nítrico formando o radical peroxinitrito
- 7) Conversão do peróxido de hidrogênio em água catalisada pela enzima catalase
- 8) Reação da glutatona reduzida com o peróxido de hidrogênio catalisada pela enzima glutatona peroxidase com formação de água e glutatona oxidada
- 9) Redução da glutatona oxidada pelo NADPH catalisada pela glutatona redutase com formação de glutatona reduzida para a manutenção da relação GSH/GSSG nas células
- 10) Reação da tiorredoxina com o peróxido de hidrogênio catalisada pela enzima peroxirredoxina com formação de água e tiorredoxina dissulfeto
- 11) Regeneração da proteína tiorredoxina pelo NADPH catalisada pela tiorredoxina redutase

Fonte: Elaboração própria adaptado de Barbosa et al., 2010), Dröge, 2002 e Halliwell, 2015.

A formação dos radicais OH^\cdot e do ONOO^\cdot sempre vão causar danos às estruturas biológicas ao seu redor (HALLIWELL, 2015), por essa razão, a eficiência do sistema antioxidante está em manter sob controle a concentração dos compostos precursores daqueles radicais, como, H_2O_2 , NO^\cdot e O_2^- . As enzimas antioxidantes endógenas são incomparáveis na eficiência em reduzir essas espécies reativas no meio intracelular (FORMAN; ZHANG, 2021). A dieta é a única fonte dos antioxidantes não-enzimáticos exógenos de baixo peso molecular com papel essencial no sistema antioxidante como:

minerais (ferro, cobre, selênio, manganês), vitaminas (vitamina E, vitamina C e carotenoides provitamina A) e os compostos fenólicos (LIGUORI et al., 2018).

4.3. Antioxidantes dietéticos

Os principais antioxidantes alimentares são normalmente hidrofílicos como a Vitamina C e apresentam como principal ação a redução dos radicais hidroxila e superóxido como doador de elétrons em reações não enzimáticas, além de atuar como quelante de metais pró-oxidantes como o ferro; ou lipofílicos como os tocoferóis (Vitamina E) e os carotenoides provitamina A relacionados com a inibição da peroxidação lipídica na membrana celular (PISOSCHI; POP, 2015)

Os compostos fenólicos têm sido cada vez mais estudados, pois apresentam as duas propriedades, hidrofílica e lipofílica, e se mostram poderosos antioxidantes, mesmo presentes em menores quantidades que as vitaminas nos alimentos. Além disso, evidências indicam que os compostos fenólicos atuam também na cadeia de sinalização anti-inflamatória, atuando em várias frentes como inibidor do estresse oxidativo (LIGUORI et al., 2018; KRUK et al., 2022)

4.3.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos possuem uma enorme diversidade química estrutural, mas todos contêm ao menos um anel aromático com um radical hidroxila, tornando-os antioxidantes potenciais (EGHBALIFERIZ; IRANSHAHI, 2016).

Esses compostos podem ser classificados em dois grandes grupos: os flavonoides e os não flavonoides (Fig. 3). Os flavonoides compõem a maior quantidade dos compostos fenólicos de frutas, verduras, cascas, sementes, raízes e galhos e podem ser divididos em grupos, sendo os principais: flavonas, isoflavonas, flavonóis (galangina, Kaempferol, quercetina, miricetina), flavanonas, antocianinas e flavanóis (catequina, galato de epicatequina, epigalocatequina, galato de epigalocatequina) (RICKARDS et al., 2021).

Os compostos fenólicos não flavonoides mais presentes em frutas e vegetais são os ácidos fenólicos subdivididos em: ácidos hidroxibenzoicos (ácido gálico, ácido ferúlico), ácidos hidroxicinâmicos e outros ácidos hidroxifenólicos (DE LA ROSA et al., 2019).

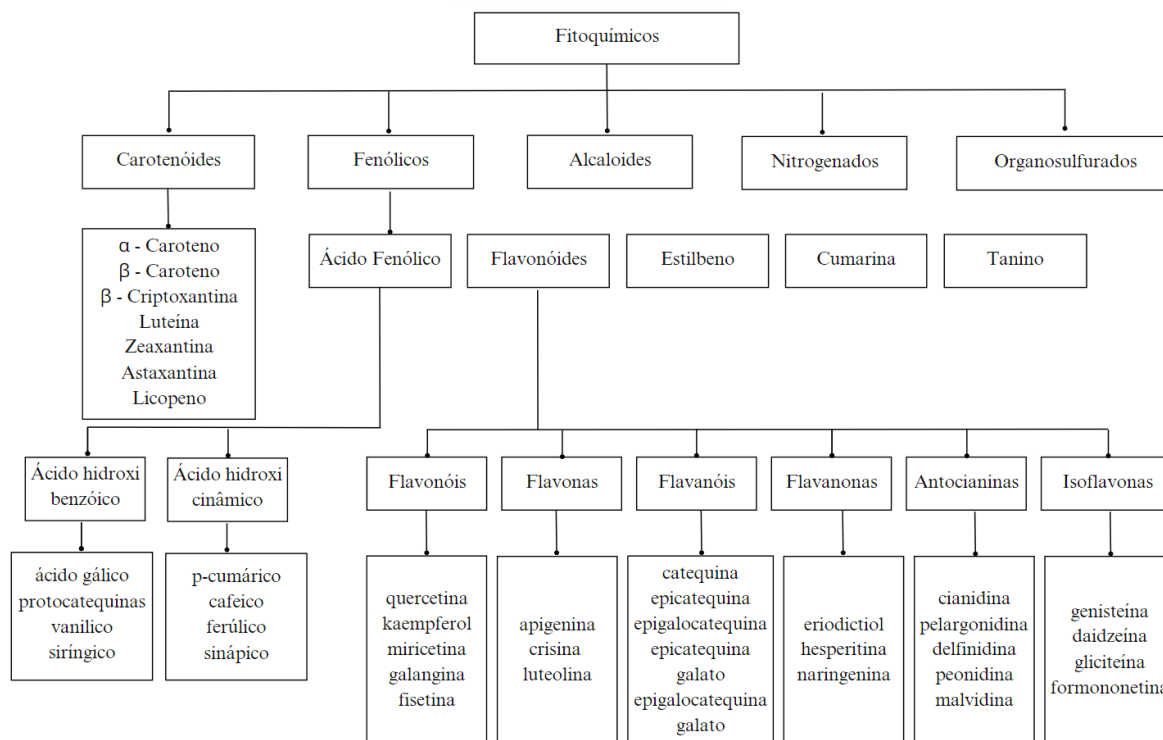


Figura 3 – Classificação dos fitoquímicos.

Fonte: Adaptado de LIU, 2004.

Esses diversos compostos influenciam na adstringência, amargor, cor e sabor das suas fontes alimentares.

Os estudos envolvendo compostos fenólicos apontam que seu efeito protetor contra DCNT não estão relacionados unicamente com sua capacidade antioxidante, mas também em diversos processos celulares como inibição de enzimas que geram radicais livres, modificação de expressão gênica, inibição da peroxidação lipídica, entre outros (KRUK et al., 2022).

A suplementação desses compostos, principalmente em altas doses e de maneira isolada deve ser melhor elucidada, visto que, em estudos *in vitro* os compostos fenólicos apresentaram um papel pró-oxidantes em determinadas circunstâncias, como por exemplo, pH ácido, aumento da concentração de metais catalisadores e podem apresentar efeitos tóxicos nos tecidos. Contudo, nenhuma evidência desse efeito pró-oxidante foi observada com o consumo através dos alimentos da dieta, provavelmente, os antioxidantes naturais quando consumidos em suas matrizes alimentares têm sua capacidade pró-oxidante limitada. Além disso, os metais catalisadores não se encontram em grandes concentrações no trato

gastrointestinal, onde a concentração de compostos fenólicos é maior que no plasma (EGHBALIFERIZ; IRANSHAHI, 2016).

A biodisponibilidade e a meia vida dos compostos fenólicos são pontos que carecem de mais pesquisas, pois mesmo após o consumo de altas concentrações, a identificação desses compostos no plasma e em tecidos é bastante reduzida, com meia vida de 1h a 2h, visto que, conforme dito anteriormente, a maior concentração desses compostos se dá em nível intestinal, restando a questão se a ação antioxidante dos polifenóis mantém maior relação com a expressão gênica de enzimas antioxidantes que como agente redutor das EROs (MORILLAS-RUIZ et al., 2006; FRAGA et al., 2010).

*

4.3.2 Carotenóides

Os carotenoides são um grupo de pigmentos tetraterpenóides de 40 carbonos e seus rearranjos são responsáveis pela diversidade de estruturas. São responsáveis pelas cores vermelho, laranja e amarelo de flores, frutas, raízes (cenoura) e sementes (urucum) (YOUNG, 2018; PÉREZ-GÁLVEZ, VIERA e ROCA, 2020).

O principal papel conhecido desses compostos é como precursor da vitamina A, com funções conhecidas na visão, crescimento e diferenciação celular. Os carotenoides são classificados como estruturas provitamina A (β -caroteno e seus isômeros, β -criptoxantina e não-provitamina A (luteína e licopeno). Os seres humanos não possuem capacidade de sintetizar carotenoides, assim, o consumo desses compostos é utilizado como marcador de ingestão de frutas e legumes. Apesar de mais de 1000 desses compostos já terem sido identificados na natureza, apenas 40 deles estão frequentemente presentes nos alimentos e ainda menos no plasma e tecidos (α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina) (PREZ-GÁLVEZ, VIERA e ROCA, 2020).

A rígida estrutura “central” do carotenoides, composta de uma série de ligações C=C conjugadas é responsável por suas propriedades de pigmentação e capacidade antioxidante de interação com os radicais livres e oxigênio singlete (FIEDOR, BURDA, 2014).

De maneira bem parecida com os estudos com os compostos fenólicos, alguns estudos apontam para a ação pró-oxidante dos carotenoides em determinadas condições, principalmente quando envolvem suplementação isolada (EDGE e TRUSCOTT, 2018).

Alguns estudos inclusive apontam para uma correlação positiva entre a suplementação e o desenvolvimento/agravamento de doenças crônicas (BÖHM et al., 2021).

Em ampla revisão, Pérez-Gálvez, Viera e Roca (2020) ponderam que ainda temos uma compreensão limitada do comportamento antioxidante dos carotenoides, mas que evidências mostram que vão muito além da formação de quelatos com íons metais e da capacidade de reduzir EROs. Daí a importância dos estudos in vivo que possibilitam a diferenciação entre atividade antioxidante, que se correlaciona com a interação desses compostos com espécies reativas, medida normalmente em sistemas modelo e capacidade antioxidante medida através de informação dentro de um contexto biológico.

4.4. Alimentos Funcionais

São classificados como alimentos funcionais ou alimentos com alegação de propriedades funcionais aqueles que mantêm relação com possíveis benefícios à saúde, que vão além do papel metabólico de nutrição. Os compostos bioativos desses alimentos estão relacionados com essa propriedade e normalmente ocorrem em quantidade pequenas nos alimentos quando comparados aos outros nutrientes. (BARRETO et al., 2018)

De forma geral, várias pesquisas apontam para o aumento do consumo de frutas e verduras como forma de proteção contra DCNT (TEODORO, 2019; KOCH, 2019; AUNE et al., 2018).

Em 2012, um dos mais citados pesquisadores sobre estresse oxidativo e a relação com DCNT, Barry Halliwell, publicou um artigo de opinião em que conclui que ainda permanece a questão: “*o estresse oxidativo causado pelo dano celular está também envolvido na fisiopatologia da doença?*”. Para o autor, os radicais livres (RL) definitivamente estão envolvidos no desenvolvimento de doenças como o câncer, doenças neurodegenerativas, doença intestinal inflamatória, artrite reumatóide, mas ainda há dúvidas de como essas substâncias atuam no desenvolvimento ou agravamento da aterosclerose e da diabetes (HALLIWELL, 2012).

Em revisão realizada por García-Sánchez et al. (2020), assim como em inúmeros outros estudos, foram apontados os mecanismos relacionados ao aumento de EROs e a fisiopatologia de doenças como aterosclerose (KATTOOR et al., 2017; FÖRSTERMANN et al., 2017); hipertensão arterial sistêmica (SILVA et al., 2022); diabetes (IGHODARO, 2018; ASMAT; ABAD; ISMAIL, 2016) e câncer (HAYES; DINKOVA-KOSTOVA; TEW, 2020).

Sendo o aumento excessivo das EROs/ERNs causadoras ou resultado das doenças crônicas, o que se sabe é que o dano celular excessivo leva ao estresse oxidativo. A morte necrótica das células libera espécies reativas que danificam outras estruturas em seu entorno. Quando um radical livre reage com uma molécula biológica não radicalar, um novo radical livre é produzido, além disso, há liberação de íons metálicos e proteínas, promovendo a inflamação aumentando ainda mais a formação EROs/ERNs. O estresse oxidativo afeta várias vias de sinalização em decorrência da alteração de proteínas, com a ativação de fagócitos induzindo a apoptose levando a liberação de peróxidos. Forman e Zhang (2021) afirmam que esses efeitos aceleram a progressão patológica e exacerbam os sintomas de doenças (HALLIWELL, 2015; HAIDA; HAKIMAN, 2019).

É consenso entre os pesquisadores que o consumo regular de frutas e hortaliças e a prática regular de exercícios físicos são úteis na redução do risco de desenvolver doenças (HALLIWELL, 2013; BARBOSA, 2010; BURESH; BERG, 2015)

4.5. Exercício como modelo de indução do estresse oxidativo

Muitas pesquisas têm utilizado o modelo de exercício agudo de alta intensidade para induzir a produção de EROs e avaliar os efeitos do estresse oxidativo do organismo, possibilitando o estudo dos mecanismos de desenvolvimento e prevenção de doenças crônicas no organismo (TOMINAGA et al., 2021; ACCATTATO et al., 2017; CORTE et.al., 2013).

Ferreira, Ferreira e Duarte (2007) apontam que, assim como visto durante o exercício físico intenso, a produção de RL em nível muscular esquelético encontra-se aumentada em situações patológicas como nas doenças crônicas quando comparados com indivíduos saudáveis. O modelo de exercício como indutor de desequilíbrio no balanço redox pode ser utilizado em substituição ao uso de fármacos indutores ou dietas hiperlipídicas e aterogênicas com a intenção de minimizar interferentes em estudos de avaliação de tratamentos com suplementos alimentares.

Em uma relação dose-resposta, enquanto a prática regular de exercícios com moderada intensidade é capaz de gerar uma resposta adaptativa mediada por espécies reativas com a expressão de genes e ativação do sistema antioxidante que auxiliam na manutenção do equilíbrio redox, a prática de forma aguda e exaustiva, com alta intensidade

e duração leva ao aumento das EROs, com aumento da peroxidação lipídica, da oxidação de proteínas, da oxidação da glutatona e é responsável por danos nas células musculares levando ao estresse oxidativo (POWERS; RADAK e JI, 2016; MALAGUTI et al., 2009).

Alguns mecanismos são responsáveis pelo aumento das espécies reativas durante a atividade física como o aumento do fluxo de oxigênio e conseqüentemente a formação de EROs na mitocôndria através da respiração celular, a estimulação da atividade da NADPH oxidase pelo cálcio liberado pela contração muscular (BURESH; BERG, 2015), o aumento da concentração da hipoxantina, como demonstrado por Radak et al. (2015), aumentando assim a atividade da xantina oxidase que, como dito anteriormente, libera espécies reativas na conversão da hipoxantina.

A resposta inflamatória desencadeada pela lesão celular causada pelo exercício em razão da ação dos macrófagos na regeneração do músculo esquelético apresenta papel fundamental na sinalização, recuperação muscular e adaptação fisiológica ao exercício. Contudo, em situações de exercício não adaptado e exaustivo, ocorre dano muscular com aumento dos marcadores inflamatórios plasmáticos e no tecido lesionado, como proteína C-reativa (PCR) e citocinas (por exemplo, fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e interleucina 6 (IL-6)) e aumento da geração de EROs e ERNs pelas células do sistema imune (MALAGUTI et al., 2009).

Os radicais livres possuem uma meia-vida curta, pois reagem rapidamente com outras moléculas em busca da estabilidade, assim, o exercício tem sido utilizado como gerador de radicais livres com o objetivo de estudar a atividade destes (ZENG et al., 2021; YADA, 2019; NALLAMUTHU; TAMATAM; KHANUM, 2014).

A depender do tipo e intensidade da atividade física, diferentes fibras do tecido muscular esquelético podem ser priorizadas. Essas fibras possuem características morfológicas e bioquímicas diferentes permitindo adaptações conforme a exigência do estímulo. Os músculos tibial anterior e solear (Fig.4) são compostos por diferentes tipos de fibras musculares, de contração rápida (glicolítica) e de contração lenta (oxidativa), respectivamente.

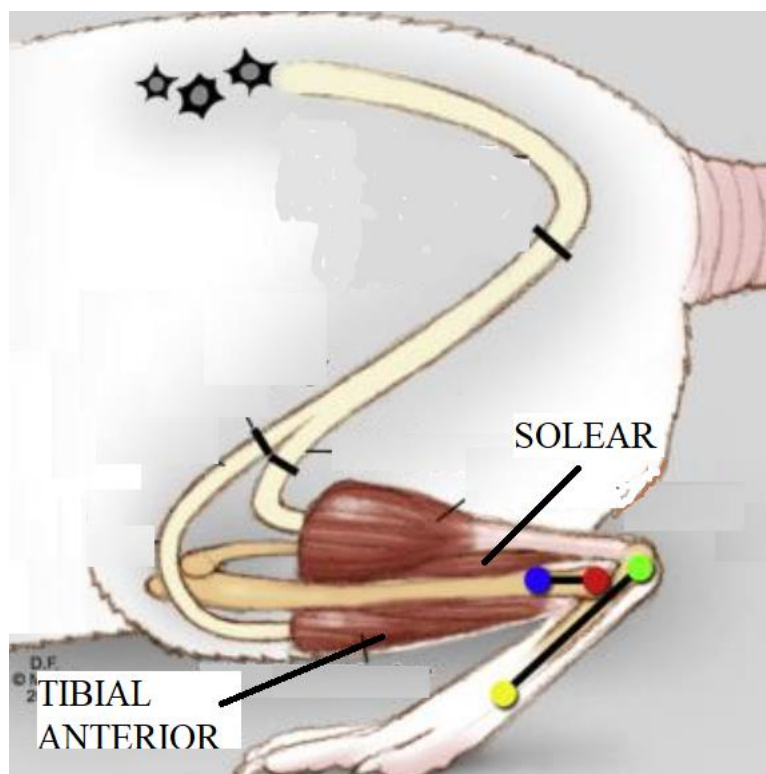


Figura 4 - Músculos tibial anterior e solear em modelo animal.

Fonte: adaptado de De Ruiter et al., 2008

As fibras de contração lenta, também conhecidas como tipo I, são desenvolvidas para as contrações menos intensas e de longa duração, como maratonas, por exemplo. Possuem alta resistência a fadiga, grande quantidade de mioglobinas - tecido vermelho - (Fig. 5) e obtêm boa parte da energia a partir da oxidação de ácidos graxos, parecem possuir maior capacidade de neutralizar as EROs pela alta atividade de enzimas antioxidantes (catalase; glutathione peroxidase e superóxido dismutase), já as fibras de contração rápida (tipo 2) são mais exigidas nas atividades de grande intensidade e curta duração, assim como o TEM utilizado neste estudo, possuem menor quantidade de mitocôndrias e mioglobinas - tecido branco - (Fig. 4), baixa resistência à fadiga e utilizam o glicogênio como principal fonte energética, possuindo maior capacidade de síntese não-oxidativa de ATP (PICARD, HEPPLÉ e BURELLE, 2012).

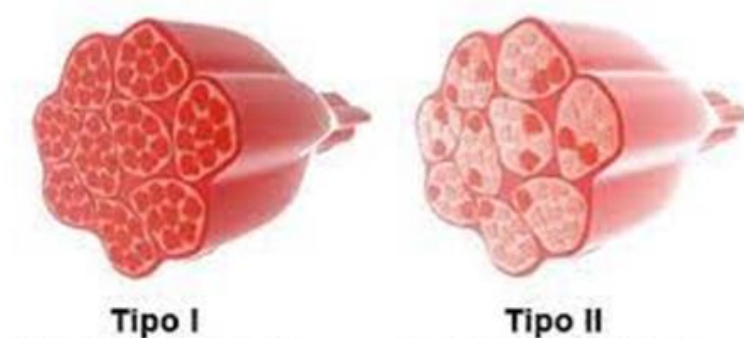


Figura 5 - Representação das fibras tipo 1 – contração lenta (Músculo solear) e fibras do tipo 2 – contração rápida (Músculo tibial anterior).

Fonte: Disponível em: <https://anatomia-papel-e-caneta.com/sistema-muscular/> . Acesso em: 04 de abril de 2023.

Com relação à aplicação do exercício extenuante como indutor do estresse oxidativo em fêmeas é importante sinalizar que, como avaliado por Chung et al. (1999), as diferentes fases do ciclo menstrual não demonstraram afetar os marcadores de estresse oxidativo em mulheres jovens submetidas à exercício extenuante. Contudo, os estudos estratificados por gêneros são essenciais para avaliação da resposta antioxidante, conforme demonstrado por Goldfarb et al. (2007), os autores encontraram dados que sugerem que mulheres possuem marcadores de capacidade antioxidante plasmáticos maiores quando comparados aos homens, sugerindo uma maior proteção com relação ao estresse oxidativo, entretanto, após uma sessão de exercício com duração e intensidades similares, os marcadores de EO aumentaram de forma similar em ambos os gêneros.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi realizado em parceria com três Universidades Federais, a Universidade Federal Fluminense (UFF), Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO) e a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

O preparo, as análises químicas dos extratos e análise do potencial antioxidante (Métodos ORAC, FRAP e DPPH) e a quantificação e caracterização dos carotenoides foram realizadas no Laboratório de Alimentos Funcionais da UNIRIO conforme descrito por De Souza et al.(2019).

As análises do efeito do consumo dos extratos em modelos experimentais ocorreram no Biotério do Laboratório de Bioquímica do Exercício e Motores Moleculares – LABEMMol da Escola de Educação Física e Desporto da UFRJ. A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) em Experimentação Científica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro sob o número de protocolo: 056/20.

Cálculo Amostral

Para o cálculo amostral, foi utilizado o programa G*Power 3.1, programa disponível gratuitamente online, onde foram estabelecidos os testes estatísticos pretendidos e os parâmetros para a definição da amostra.

Considerando as características da amostra a ser estudada, espera-se uma distribuição normal das variáveis, foi definido o teste paramétrico de análise de variância (ANOVA) para comparação entre as médias dos grupos. A equipe de pesquisa determinou um tamanho de efeito esperado de 0,6 ou 60%; nível de significância 5% ($p = 0,05$); com um poder de 85% (recomendado pelo Comitê de Ética Animal da UFRJ); a quantidade de comparações possíveis entre os oito grupos (7) e a quantidade de grupos (8). Assim, obtendo o resultado de 53 animais, considerando a divisão pelos grupos, foi ajustado para 56 animais, conforme figura abaixo:

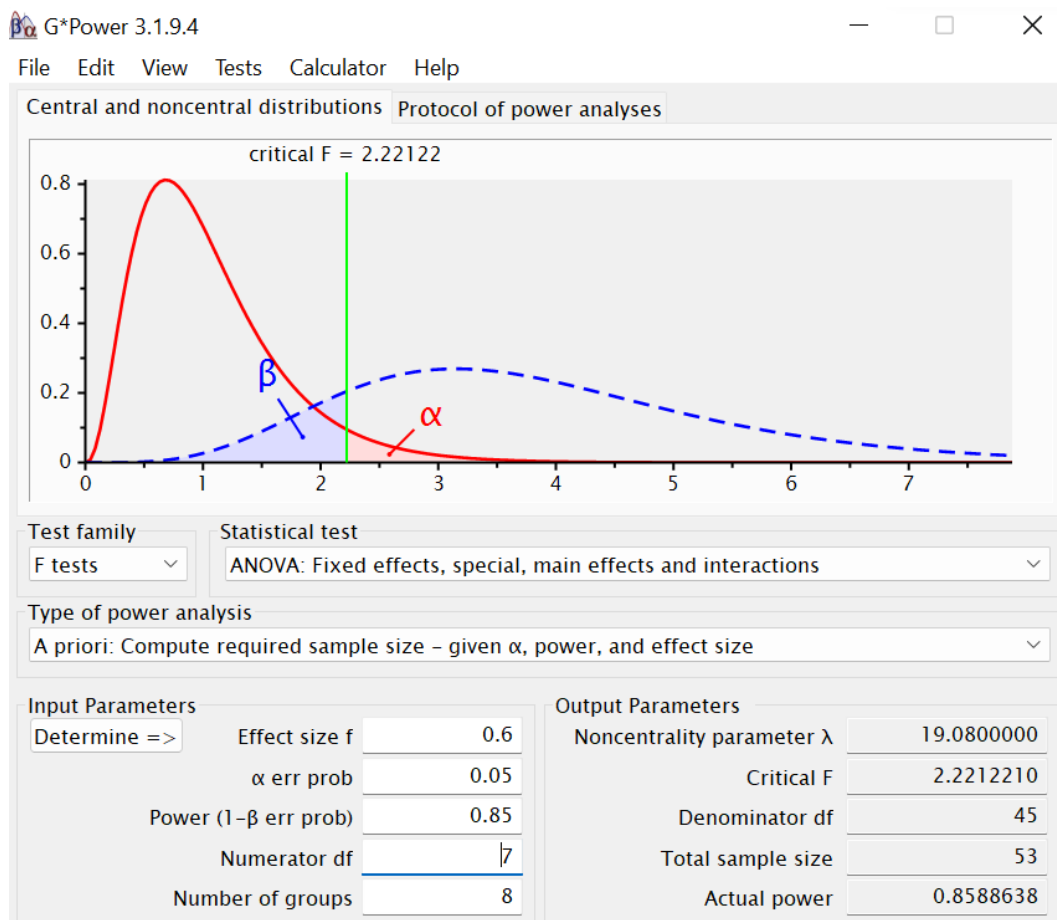


Figura 6 - Imagem da tela do programa G*Power 3.1 após a definição dos parâmetros para o cálculo amostral.

Fonte: Elaboração própria.

Preparo dos extratos

O preparo e a análise dos extratos foram realizados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Alimentos Funcionais da UNIRIO.

A polpa do fruto do murici já congelada e pasteurizada foi obtida do mesmo lote junto a um produtor de Belém-PA (Petruz Fruity, Castanhal, PA, Brasil) e mantida a -18°C até o momento do processamento no laboratório. A polpa (250g) foi avolumada com 80 ml da solução extratora (40ml de água e 40ml de etanol) e submetida à extração com banhos de ultrassom por período de 10 minutos. O resíduo foi coletado para três novas extrações. A solução extraída, foi filtrada no papel de filtro Whatman n° 1 e o resíduo de etanol secundário foi evaporado sob baixa pressão a 45°C . O extrato foi congelado em ultra freezer a -80°C , liofilizados por 24h e armazenados a -80°C até o momento das análises (PAIM, 2019).

Preparo dos extratos para gavagem

O extrato liofilizado do murici (ExEM) foi mantido em freezer a -80°C até o momento do preparo para gavagem. O extrato foi pesado nas quantidades correspondentes para cada animal, diluído em 1ml de água filtrada à 40°C , solubilizado no agitador Vortex multifuncional KASVI e centrifugado por 2 min a 900 rpm para evitar a formação de grânulos e dificuldade no momento da gavagem e o sobrenadante foi coletado para ser administrado nos animais.



Figura 7 – Extrato do murici diluído.

Fonte: Acervo pessoal.

5.1. Parâmetros Antropométricos

Os parâmetros antropométricos foram analisados por meio do ganho de massa entre os grupos.

Os animais foram pesados em balança marca Toledo modelo 9094 com capacidade até 6kg no início dos 14 dias de intervenção, a cada 3 dias para ajuste da dosagem dos extratos e na véspera da eutanásia. Os pesos iniciais e finais dos animais foram registrados para avaliação do ganho de massa corporal entre os grupos.

Protocolo experimental

Durante 14 dias, 56 ratos fêmeas da linhagem Wistar foram alimentados (com ração *ad libitum* e água) e suplementados diariamente com 1ml do extrato do murici nas

concentrações correspondentes através de uma sonda oroesofágica (1 mm de diâmetro; 3 cm de comprimento) adaptada a uma seringa de 5 ml. Os animais do grupo controle também foram submetidos ao estresse da gavagem, mas com água no lugar do suplemento.

As ratas tinham entre 2-3 meses e 200-250g e foram mantidas em gaiolas coletivas de polietileno, medindo 37,0 x 31,0 x 16,0cm, (4-3 animais por gaiola) com iluminação controlada (ciclo claro-escuro de 12 h) e temperatura (23–24°C).

Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos: Controle - sem suplementação; GMU - grupo suplementado com extrato do murici; Controle+EM - grupo sem suplementação e submetido ao teste de esforço máximo (TEM) imediatamente antes da eutanásia; GMU+EM - grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo antes da eutanásia. Nos grupos suplementados os animais foram divididos de acordo com a dosagem diária do extrato (n=7) de 50 mg/Kg (50 GMU e 50GMU+EM); 100 mg/Kg (100 GMU e 100 GMU+EM) e 250 mg/Kg (250 GMU e 250 GMU+EM), tendo a água como veículo de infusão.

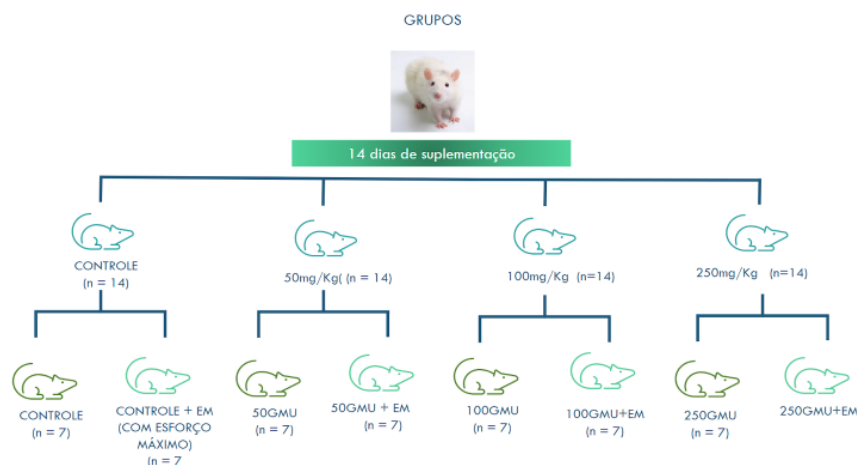


Figura 8 – Desenho do modelo experimental do estudo.

Fonte: Elaboração própria

Os animais foram mantidos em jejum de 12h antes da eutanásia e do teste de esforço máximo.

Para o teste de esforço máximo (TEM) foi utilizado o nado forçado em um tanque com bordas largas com água a ± 36 °C e 100 cm de profundidade. Os animais foram colocados no tanque individualmente com uma sobrecarga correspondente a 8% da massa corporal fixada a cauda e induzidos a nadar até alcançarem o estado de fadiga, identificado

quando o animal permaneceu abaixo da superfície por mais de 10 s (BAKER; HORVAT, 1964).

Os animais foram eutanasiados por decapitação e o sangue da veia jugular foi coletado imediatamente em tubos contendo EDTA. Os músculos tibial anterior (MTA) e solear (MS) foram dissecados, pesados e colocados juntamente com as amostras do fígado em nitrogênio líquido e posteriormente armazenado a -80°C .

Obtenção do Plasma e eritrócitos

O sangue foi centrifugado ($4.000 \times g$, 10 min, 4°C) para a separação do plasma e eritrócitos. O sobrenadante (plasma) foi separado, alíquotado e armazenado em freezer -80°C até o momento das análises. O pellet foi ressuspensão com solução salina 0,9% gelada e centrifugado ($4.000 \times g$, 15min, 4°C). O sobrenadante foi descartado e o pellet novamente ressuspensão com solução salina e centrifugado. Este procedimento foi repetido três vezes para obtenção de eritrócitos. Os eritrócitos foram alíquotados e armazenados a -80°C para análises.

Homogenato dos tecidos

Os homogenatos do fígado e músculos foram preparados com a adição de 2 ml de tampão de homogeneização (1 mM PMSF, 0,5 mg/ml aprotinina, solução salina 0,9% e 10 mM Tris-HCl, pH 7,5) a 200 mg de tecido em potter de vidro com pistão de teflon mantido em gelo, utilizando homogeneizador com velocidade $500 \times g$ por 10 vezes. O homogenato foi centrifugado a $750 \times g$ por 10 min, 4°C em micro centrífuga refrigerada Thermo Fisher Scientific (Sorvall Stratos, USA). O sobrenadante foi cuidadosamente coletado e o precipitado obtido rico em tecido conectivo, membrana plasmática, núcleo e debris celulares, descartado. O sobrenadante foi estocado a -80°C até o momento das análises.

Dosagem de proteínas totais em tecidos

As análises foram corrigidas pela quantidade de proteínas totais nas amostras que foram quantificadas através do método de Bradford. As proteínas das amostras reagem com o corante azul de comassie brilhante g-250, formando um complexo de cor azul, que são lidos em microplaca por espectrofotometria a 595nm, assim como a curva padrão utilizando dosagens conhecidas da albumina bovina (BRADFORD, 1976). Os resultados são apresentados em mg de proteína/ml.

Dosagem de hemoglobina em eritrócitos

As enzimas antioxidantes estão presentes, principalmente, no meio intracelular, por essa razão, para as análises da CAT e SOD utilizou-se os eritrócitos (VASCONCELOS et al. 2007). Para a correção das análises foi realizada a quantificação das hemoglobinas nos eritrócitos utilizando-se o kit Bioclin K023 (Quibasa – Química Básica Ltda., Minas Gerais, Brasil), de acordo com recomendações do fabricante. Os resultados são apresentados em g de hemoglobina/dl.

5.2. Marcadores de Estresse Oxidativo

Avaliação do dano à membrana celular

Medida da lipoperoxidação pelo método FOX (oxidação do ferro pelo xilenol laranja)

A quantificação dos níveis de hidroperóxidos lipídicos foi realizada a partir do método de FOX (WOLFF,1994). Este método quantifica a formação de hidroperóxidos durante a peroxidação lipídica. A presença de hidroperóxidos leva à redução do íon Fe^{2+} a Fe^{3+} , o qual se liga ao corante xilenol laranja, gerando uma cor característica (laranja/marrom), a qual pode ser medida fotometricamente em 560 nm. O método é simples e muito sensível capaz de detectar hidroperóxidos em baixas concentrações.

A 90 μ l de amostra foi adicionado 10 μ l de BHT (butil-hidroxi-tolueno) 40 mM (45 mg em 5 ml de metanol), vortexado por 1 min, em seguida as amostras foram centrifugadas por 5 min a 5000 x g a 4°C. Em 100 μ l do sobrenadante foram adicionados 900 μ l da solução

de trabalho (45 ml de metanol a 90%; acrescentado 0,004 g xilenol laranja a 100 μM ; 1,5 ml de ácido sulfúrico a 25 mM e 0,005g de sulfato ferroso 250 μM). A mistura foi incubada por 2h no escuro em temperatura ambiente e centrifugada a 10.000 x g a 4 °C por 10 minutos. O sobrenadante retirado e a absorbância lida em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 560nm. A concentração de hidroperóxidos lipídicos foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $4,46 \pm 0,23 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (HERMES-LIMA; WILLMORE; STOREY, 1995; JIANG; WOOLLARD; WOLFF, 1991; WOLFF, 1994). Os resultados são expressos em nmoles de peróxidos lipídicos/mg de proteína.

Medida da lipoperoxidação pelo método TBARS

A peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO) das membranas celulares é a junção de um RL aos ácidos graxos da membrana ocasionando a destruição de sua estrutura. Com a finalidade de verificar a LPO endógena foi utilizada a detecção da formação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizando o método descrito por Feldman (2004). O malonaldeído (MDA) é um produto da peroxidação lipídica que reage com o ácido tiobarbitúrico formando um pigmento róseo que pode ser medido fotometricamente.

A 50 μL de amostra (plasma e tecidos) foi adicionado 150 μL de tampão fosfato 100 mM. A 200 μL da mistura foi adicionado 200 μL de TCA 10% e a mistura foi resfriada por 15 minutos a 4 °C. A amostra foi centrifugada a 2200 x g por 15 minutos. Em 300 μL do sobrenadante foi adicionado 300 μL de TBA, a mistura foi levada ao banho-maria por 1 hora a 95 °C e resfriada a temperatura ambiente por 15 minutos. Foi retirado 150 μL para leitura em placa de ELISA a 532nm. A concentração foi calculada pela curva padrão e os valores apresentados em nmol de TBARS/mg de proteína para os tecidos e nmol de TBARS/ml para plasma (FELDMAN, 2004).

Medida do dano oxidativo a proteínas

A oxidação de proteínas é resultado da ação das espécies reativas sobre as cadeias laterais dos aminoácidos e resultam na formação de compostos carbonílicos que são um dos

marcadores do dano químico de proteínas oxidadas. A oxidação de proteínas foi analisada no plasma seguindo o protocolo descrito por Mesquita et al. (2014) pela determinação da formação de derivados carbonílicos após reação com o 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) em meio alcalino.

A 80 µl de amostra foi adicionado 80 µl de DNPH (10mM diluído em 0,5 M H₃PO₄), a mistura foi vortexada e incubada protegida da luz à temperatura ambiente por 10 minutos. Para o branco, foi adicionado o ácido fosfórico 0,5 M às amostras, mas sem adição do DNPH. Após esse período, foi adicionado às misturas, tanto branco quanto a reativa, 40 µl de NaOH (6 M) e realizada a centrifugação 5 minutos em temperatura ambiente (25°C) e 4000 rpm. Após mais 5 minutos de incubação, a absorbância do sobrenadante foi lida em placa de ELISA a 450 nm. Após a adição do NaOH é necessário respeitar rigorosamente os 10 minutos de incubação para garantir a estabilidade da reação. A concentração dos grupamentos carbonilados foi calculada pelo coeficiente de extinção molar 22,308 M⁻¹.cm⁻¹. Os dados foram expressos em nmol de proteínas carboniladas/mg de proteína no plasma.

Dosagem de enzimas indicativas de lesão tecidual

Para determinação da função hepática, níveis séricos da aspartato aminotransferase ou transaminase oxalacética (AST ou TGO), da alanina aminotransferase ou transaminase glutâmico-pirúvica (ALT ou TGP), e da gama glutamil transferase (GGT) foram mensurados, utilizando-se os kits Bioclin K048, K049 e K080 (Quibasa – Química Básica Ltda., Minas Gerais, Brasil), de acordo com recomendações do fabricante.

Tratam-se de ensaios com metodologia cinética UV e procedimentos similares com adição dos reagentes de trabalho (RT) dos kits à 37°C nas amostras em microplaca UV e leitura seriada nos tempos 60, 120, 180 e 240 segundo no espectrofotômetro nas absorbâncias definidas para cada análise. A atividade das enzimas é proporcional às velocidades medidas de oxidação ou redução de compostos catalisadas por essas enzimas. Para os cálculos são utilizadas as médias das diferenças de absorbância por minuto multiplicadas por fator específico e os resultados são expressos por U de enzima por mg de proteína.

A AST catalisa a redução do Oxalacetato a Malato e a ALT catalisa a reação de redução do Lactato a Piruvato com oxidação do NADH com leituras das atividades a 340 nm.

A GGT catalisa a transferência do radical Glutamil do substrato e formação da 5-Amino-2-Nitrobenzoato. A velocidade de formação desse composto lida a 405 nm é proporcional à atividade da enzima.

Para determinação de lesão muscular, os níveis séricos creatina quinase (CK) e Lactato Desidrogenase (LDH) foram mensurados, utilizando-se os kits Bioclin K069 e K014 (Minas Gerais, Brasil), de acordo com recomendações do fabricante.

A LDH catalisa a redução do Piruvato a Lactato com a conversão do NADH em NAD⁺(Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo). A concentração catalítica se determina a partir da velocidade de decomposição do NADH, medida pela queda da absorbância a 340 nm.

A CK catalisa a redução NADP⁺ a NADPH em presença da creatina fosfato e glicose e a velocidade de formação do NADPH é lida a 405 nm e é proporcional à atividade da enzima.

5.3. Avaliação da defesa orgânica contra o dano oxidativo

Medida dos grupos tióis totais (proteicos e não-proteicos) reduzidos (incluindo Glutathiona reduzida)

Para a medição de tióis reduzidos totais utilizou-se o Reagente de Ellman (DTNB - 5,5-ácido ditionitrobenzóico). A 20µL de amostra foi adicionado 160µL de solução tampão tiol (Tris 200 mM e 20 mM de EDTA ph 8,2), 820 µL de metanol absoluto e 10 µL de solução DTNB 10 mM (3,9 mg em 1ml de metanol), a mistura foi vortexada e incubada por 15 minutos em temperatura ambiente, após, foi centrifugada por a 3000 x g por 15 minutos a 25°C e a absorbância foi lida em placa de ELISA a 412 nm. A concentração foi calculada pelo coeficiente de extinção molar $4,46 \pm 0,23 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Os dados foram expressos em nmoles de peróxidos lipídicos/mg de proteína.

No ensaio baseado no protocolo de Ellman (1959), o desenvolvimento de cor se dá pela reação dos grupos tióis com DTNB, e consequentemente liberação de TNB (5-tio-2-

nitrobenzoato), a qual pode ser medida fotometricamente e expresso em nmol de DTNB reduzido / mg de proteína. Em situações de estresse oxidativo, os níveis de tióis reduzidos diminuem, assim como a quantidade de DTNB que é reduzida. Paralelamente, as amostras também foram preparadas na ausência de DTNB (branco), a fim de subtrair a absorbância causada por substâncias interferentes, tais como o grupo heme no plasma. (FRANKENFELD, et al., 2014).

Atividade das enzimas antioxidantes

A atividade da catalase (CAT) e da superóxido dismutase (SOD) foi realizada nos eritrócitos, fígado e tecidos musculares (MTA) e (MS).

A CAT foi mensurada pela velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) presente na amostra como descrito por AEBI (1984). O eritrócito foi diluído em solução salina 0.9% (1:1, v/v). A 10 μ L da amostra (eritrócito ou homogenato tecidual) foi adicionado 1 mL de solução contendo 50 mM PBS, pH 7,2 e aquecido a 37°C na ausência ou presença de 30 mM H_2O_2 . A velocidade de consumo do peróxido foi mensurada com a metodologia cinética em microplaca UV e leitura seriada nos tempos 0, 60, 120 e 180 segundos espectrofotometricamente a 240nm. A atividade enzimática foi calculada como $k = (2.3/\Delta t)(\log A_0/A_90)/seg$ e os resultados apresentados como k/mg de proteína ou k/g de hemoglobina/L para a dosagem no eritrócito.

A atividade da SOD foi dosada através da inibição da auto oxidação da epinefrina em pH 10,2 como descrito por Bannister e Calabrese (1987). As amostras (10 μ L) foram diluídas em 970 μ L tampão glicina 50 mM, pH 10,2 à 32°C. A reação foi iniciada pela adição de 10 μ L de catalase 0,0024 g/mL e 17 μ L de adrenalina 60 mM (com adição de 15 μ L de HCl 12M para cada 1 mL de solução). A leitura foi medida a 480 nm por 180 segundos, com o registro de leitura a cada 10 segundos, e o cálculo foi feito com base na leitura da auto-oxidação da adrenalina sem a amostra (branco) em microplaca UV a 240 nm.

Para os resultados, considera-se que uma unidade de SOD é capaz de promover 50% de inibição e os resultados foram expressos em U/mg de proteína ou U/g de hemoglobina/L para a dosagem no eritrócito.

Capacidade antioxidante total (DPPH)

A capacidade antioxidante total (CAOT) é um biomarcador de estresse oxidativo que pode ser analisada através da capacidade de decomposição do 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

O protocolo utilizado para a análise da CAOT foi o de inibição da auto-oxidação do 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Janaszewska; Bartosz, 2002). Para a análise do plasma e homogenato dos tecidos, 20 μ L da amostra foi desproteïnizada com acetonitrila 100% (v/v), segundo o método proposto por Chrzczanowicz et al. (2008). A amostra foi centrifugada (1800 x g, 5 min, 4 °C) e então 20 μ L sobrenadante foi diluído em 380 μ L de tampão PBS (10 mM, pH 7,4). Em seguida foram adicionados 400 μ L de solução 0,1 mM de DPPH diluídos em metanol a 95% e o volume total foi incubado por 30 minutos a temperatura ambiente e em privação de luz. A leitura das amostras foi realizada em comprimento de onda de 520 nm e o seu cálculo foi baseado em curva-padrão de DPPH feita somente com tampão PBS. Os resultados são mostrados em percentual de inibição da auto-oxidação do DPPH.

5.4. Análises estatísticas

Todos os experimentos foram realizados em duplicata e os resultados apresentados como média \pm desvio padrão. Para as análises foi utilizado o teste o ANOVA em duas vias seguido de pós-teste linear em dois estágios de Benjamini, Krieger e Yekutieli (2006.), com taxa de falsa descoberta para comparações com os grupos controle (GMU e GMU+EM). A comparação foi considerada estatisticamente significativa quando $p < 0,05$ e a taxa de falsa descoberta determinada foi de $q < 0,10$. Os dados foram analisados utilizando o programa GraphPad Prism 8.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi avaliada a atividade antioxidante *in vivo* de três diferentes dosagens do extrato etanólico liofilizado preparado a partir da polpa do murici (ExEM) em ratas saudáveis sedentárias e após uma sessão de atividade física até a fadiga. O exercício foi utilizado como um indutor da produção de moléculas oxidantes visando avaliar o efeito das diferentes dosagens na proteção antioxidante.

Muitos estudos com antioxidantes trabalham com compostos isolados encontrando resultados inconclusivos ou pouco expressivos (KHOR et al., 2021; KAZEMI et al. 2022). Em revisão sistemática realizada por Aune et al. (2018) o consumo aumentado dos principais antioxidantes alimentares, como, vitamina C, vitamina E e carotenoides em suas matrizes alimentares mantiveram relação inversa com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, câncer e mortes prematuras, mas o mesmo não foi encontrado com a suplementação isolada desses nutrientes, resultado similar ao já descrito por Bjelakovic et al. (2007), sugerindo que alguns antioxidantes quando usados de maneira isolada ou em altas dosagens podem agir como substância pró-oxidantes e potencializar o estresse oxidativo (CHILD et al., 2001).

Muitos efeitos benéficos que são atribuídos à polpa do murici têm relação com os compostos bioativos presentes nessa fruta rica em vitaminas, como a vitamina C, com os carotenoides como a luteína e a zeaxantina, com os compostos fenólicos como polifenóis (ácido fenólico, ácido gálico, entre outros); com os flavonoides (quercetina, catequina) e com os esteróis (tocoferol) (MARIUTTI, RODRIGUES e MERCADANTE, 2013; BORGES et al., 2022; DE ARAÚJO et al., 2018; FARIAS et al., 2017).

O funcionamento do sistema de defesa antioxidante enzimático e não-enzimático age de maneira complexa combatendo os efeitos do estresse oxidativo, assim, foram utilizados vários marcadores para a avaliação desses efeitos e da defesa orgânica contra os efeitos danosos dos radicais livres no corpo humano (SIES, 2020).

6.1. Parâmetros Antropométricos

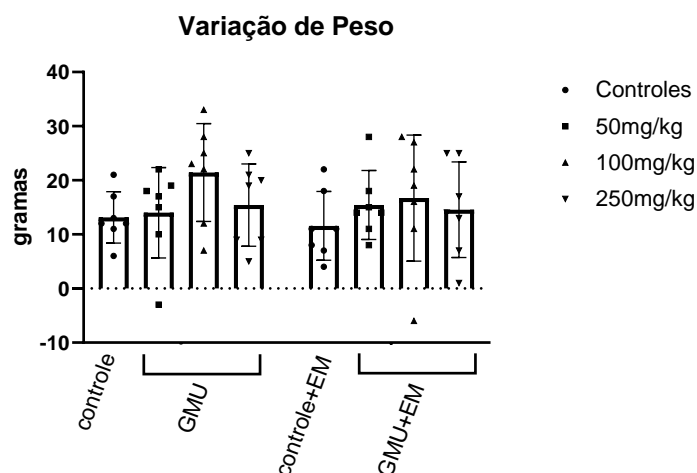


Figura 9 – Variação do peso dos animais em gramas. GMU - grupo suplementado com extrato do murici; GMU+EM - grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo; Grupos: Controle; 50mg/Kg; 100mg/Kg e 250mg/Kg (n=7).

Os animais iniciaram o experimento com média de $235,79 \pm 20,31$ g e ao final, apresentaram $251,07 \pm 20,94$ g. A polpa do murici contém aproximadamente 4% de lipídeos (ANICETO, 2017), percentual similar aos 3,9% encontrado na polpa do açaí (TACO, 2011) e mesmo a maior parte dos animais tendo apresentado ganho de massa, como demonstrado na figura 9, não foi observada diferença significativa entre os grupos no período de 14 dias de experimento, mesmo nos animais com maiores concentrações do extrato. Esses resultados vão ao encontro dos apresentados por Ugwor et al. (2022) que também não encontraram diferenças no ganho da massa corporal de animais suplementados por 15 dias com 20 e 40 mg/kg de licopeno. No início do experimento, os animais estavam com 12 semanas de idade, assim, o ganho de massa era esperado considerando a fase evolutiva em que se encontravam. Bolaños e Arruda (2009) realizaram o acompanhamento ponderal de ratos machos com água e alimentos *ad libitum* e sem atividade física e encontraram ganho de massa contínua até 16 semanas de idade.

6.2. Tempo em esforço máximo

Tabela 3 - Tempos médios em segundos de duração do Teste de esforço máximo

Tempo de execução do teste de esforço máximo	
GMU+EM	Média±DP (segundos)
Controle+EM	291,3±230,7
50GMU+EM	188,7±48,1
100GMU+EM	244,5±74,9
250GMU+EM	269,8±53,6

Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo). Dosagens: Controles; 50mg/Kg; 100mg/Kg e 250mg/Kg (n=7).

A fim de descartar possíveis adaptações fisiológicas ao tempo de execução do exercício agudo nos parâmetros analisados, foram comparados os tempos médios de duração do teste de esforço máximo dos animais de cada grupo. Apesar de estudos e revisões indicarem um aumento na performance após a suplementação aguda ou crônica de compostos fenólicos (MALAGUTI; ANGELONI e HRELIA, 2013; IMPERATRICE et al., 2022), no protocolo de exercício utilizado, não foi possível identificar diferenças significativas entre os tempos médios dos grupos suplementados e do grupo controle (Tabela 3), o animal com maior tempo até a exaustão nadou por 12 minutos (Controle+EM) e o com menor tempo, por 2min (100GMU+EM). Os animais do grupo suplementado com 50 GMU+EM foi apenas um pouco menor que os demais, mas não foram identificadas diferenças na performance quando comparados aos animais do grupo Controle+EM (p=0,13). O resultado foi o mesmo encontrado por Belviranli et al. (2012) que não encontrou diferença entre os tempos até exaustão de ratos machos não suplementados e com 6 semanas de suplementação com extrato de semente de uvas, rico em compostos bioativos, após uma sessão de exercício agudo.

6.3. Marcadores de Estresse Oxidativo

Na presente pesquisa foi utilizado o modelo de exercício agudo extenuante para induzir a produção de radicais livres ao invés de fármacos ou dietas hiperlipídicas e

aterogênicas como indutor de desequilíbrio no balanço redox a fim de descartar uma possível influência das drogas na ação do extrato.

Não foi possível realizar o ensaio do TBARS e de proteína carbonilada em todos os tecidos por escassez dos mesmos.

Os lipídios são os maiores componentes da membrana celular, logo, a identificação de compostos da peroxidação lipídica está diretamente relacionada ao dano a essa estrutura, por essa razão é muito relacionada aos estudos de estresse oxidativo *in vivo*. Visando determinar se o extrato de murici foi capaz de promover proteção antioxidante às membranas, a peroxidação lipídica foi avaliada.

Pode ser observado na figura 10 que no tecido hepático houve um aumento significativo da peroxidação lipídica no grupo controle+EM, já no plasma não houve diferença significativa entre os grupos controles e os grupos GMU e GMU+ EM.

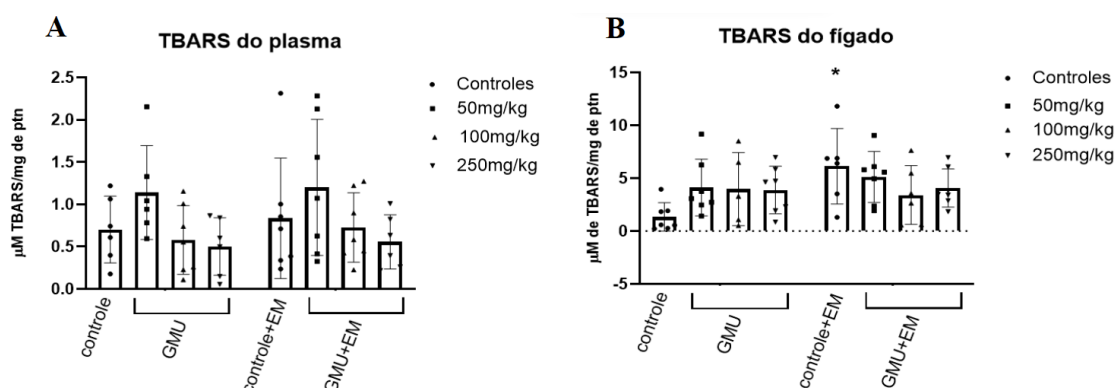


Figura 10 – Marcadores de Estresse Oxidativo. Peroxidação Lipídica: TBARS no plasma (A) e fígado (B). Controle e GMU (grupo suplementado com extrato do murici). Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo)

Em situação de EO são esperados valores aumentados para os marcadores de peroxidação da membrana celular nos tecidos. O TEM foi responsável pelo aumento significativo do grupo Controle+EM $6,13 \pm 3,56$ μM de TBARS/mg de proteína ($p=0,001$) quando comparado ao grupo Controle $1,34 \pm 1,35$ μM de TBARS/mg de proteína no ensaio de medição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico do fígado (Fig. 7B), mas o mesmo efeito não foi evidenciado nos grupos GMU e GMU+EM quando comparados com seus respectivos controles.

Outros estudos envolvendo suplementação com antioxidantes e estresse oxidativo induzido por exercício de alta intensidade, como o de Corte et.al. (2013) que realizaram a eutanásia imediatamente após um protocolo de exercício agudo de animais suplementados durante 24h com suco de uva orgânico rico em compostos fenólicos, encontraram resultados similar aos encontrados neste estudo nos marcadores plasmáticos de LPO. Bloomer, Goldfarb e Mckenzie (2006) também não encontraram diferenças significativas, mesmo após medições seriadas imediatamente após três sessões de exercícios intensos em humanos com 2 semanas de suplementação com compostos antioxidantes. Os estudos sugerem que esse marcador não é afetado imediatamente após o protocolo de exercício agudo em razão dos mecanismos de proteção antioxidante ou ainda que o protocolo utilizado não tenha atingido intensidade e/ou duração suficientes para causar alterações neste marcador plasmático (BLOEDON et al., 2019; ZENG et al., 2021; SUZUKI et al., 2003).

Apesar de não encontrarmos alterações no TBARS no plasma, o exercício foi capaz de elevar as TBARS no fígado dos animais do Controle+EM quando comparado com os animais do Controle ($p=0,001$). Estudos anteriores apoiam a hipótese de que os efeitos de uma única sessão de exercício até a exaustão podem ser identificados inicialmente em nível hepático e os efeitos nos demais tecidos dependem da intensidade e da duração do estímulo (Ramos et al., 2013).

No presente estudo, o extrato do murici não foi capaz de atenuar os efeitos da peroxidação lipídica hepática, visto que, não houve diferença significativa quando comparados os animais tratados do GMU+EM com o Controle+EM.

O ensaio do TBARS é de fácil aplicação e reprodutividade e objetiva medir o malonaldeído (MDA), um produto citotóxico secundário formado pela oxidação dos ácidos graxos na fase de terminação da LPO. Contudo, apesar de ser o ensaio mais amplamente utilizado no estudo da oxidação de membranas celulares, outras substâncias presentes em materiais biológicos, como carboidratos e aminoácidos, podem reagir com o ácido tiobarbitúrico e interferir na leitura do MDA, tornando o ensaio menos específico (JARDINE, 2002).

O ensaio FOX, considerado mais específico, se diferencia por ter como objetivo medir a reação dos hidroperóxidos, produtos primários formados na fase de iniciação da LPO, com o íon ferro (ABDALLA, 2008).

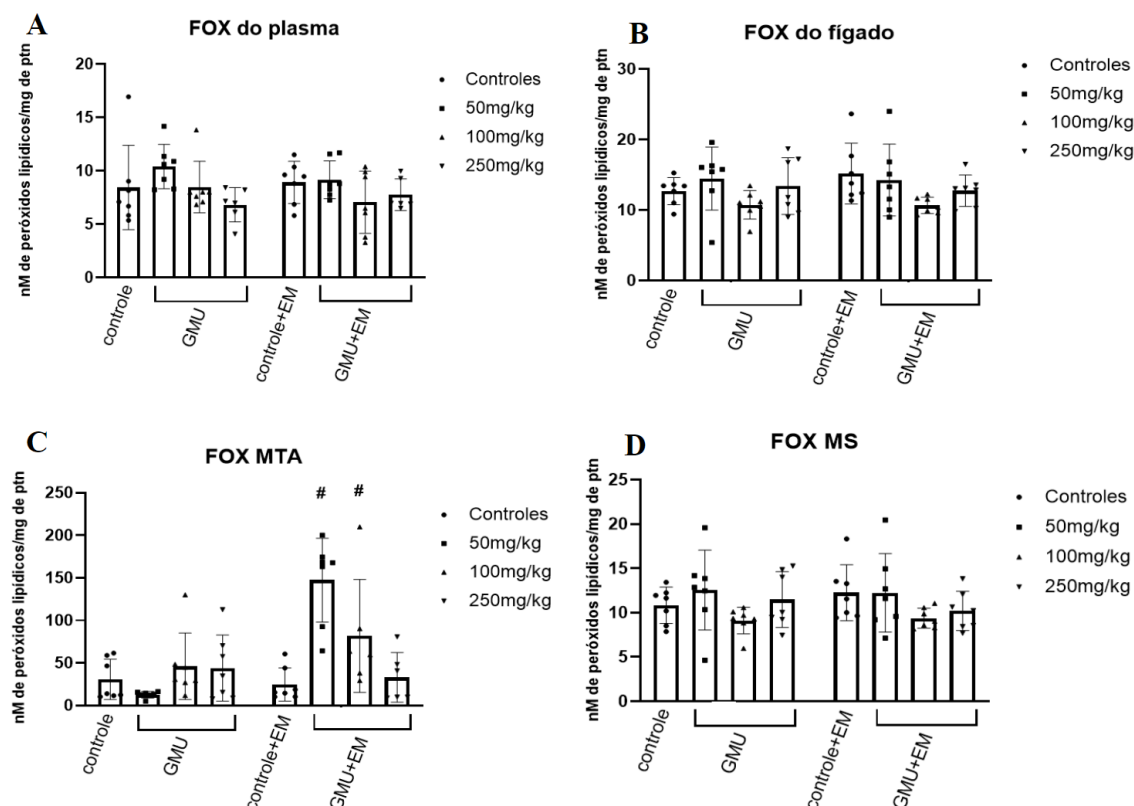


Figura 11– Marcadores de Estresse Oxidativo. Peroxidação Lipídica: FOX no plasma (A), fígado (B) e músculos tibial anterior (MTA) (C) e solear (MS) (D). Controle e GMU (grupo suplementado com extrato do murici). Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo). Dosagens: Controles; 50mg/Kg; 100mg/Kg e 250mg/Kg (n=7). #p<0,05 versus Controle+EM.

O biomarcador de dosagem de hidroperóxidos lipídicos, realizado através do método FOX do músculo tibial anterior (Fig. 11 - C) apresentou aumento nas dosagens 50GMU+EM $147,30 \pm 49,23$ ($p < 0,0001$) e 100GMU+EM $81,74 \pm 66,36$ ($p = 0,009$) quando comparados com o Controle+EM $24,76 \pm 19,60$ nM de peróxidos lipídicos/mg de proteína.

O ensaio FOX não apresentou alteração no músculo solear em nenhum grupo, o resultado pode ser explicado pelo curto período de duração do exercício e pouco acionamento desse tipo de fibra muscular esquelética, visto que, o músculo solear é composto majoritariamente por fibras de contração lenta que são menos exigidas durante um TEM.

Quando analisado a dosagem FOX do MTA, músculo composto de fibras de contração rápida, mais exigido em exercícios de curta duração, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos suplementados GMU e o Controle e entre os grupos Controle $61,62 \pm 58,89$ e Controle+EM $44,13 \pm 60,43$ ($p = 0,77$), entretanto os resultados dos grupos

50GMU+EM ($p=0,0001$) e 100GMU+EM ($p=0,009$) foram maiores com relação ao Controle+EM, indicando que nessas concentrações o extrato foi responsável por elevar o marcador de estresse oxidativo. Esse resultado contrasta com os encontrados por outros autores após suplementação com frutas ricas em compostos fenólicos e outros antioxidantes (YADA et al., 2019; CORTE et al., 2013). Contudo, em animais sedentários como os do presente estudo, alguns autores encontraram resultados similares. De Araújo et al. (2019) realizou a suplementação com extrato de uma planta da espécie da família Euphorbiaceae encontrada na caatinga brasileira, a *Croton Argrophyllus*, também conhecida como “velame falso”, rico em compostos fenólicos e com potencial antioxidante *in vitro*, em animais sedentários e apresentou aumento dos marcadores de LPO nos animais que receberam o extrato. Em revisão realizada por Braakhus e Hopkins (2015) os autores encontraram resultados que apontavam para efeitos negativos não elucidados de alguns compostos fenólicos (por exemplo, quercetina e resveratrol) em animais sedentários, mas não em humanos e animais ativos.

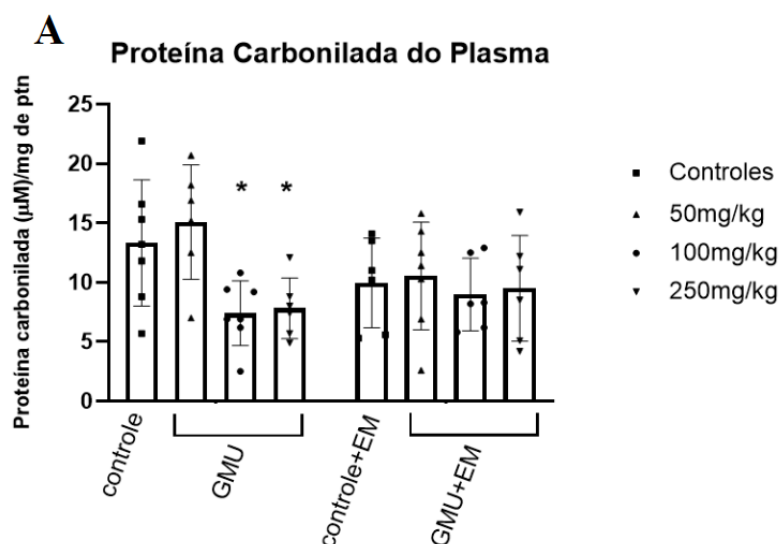


Figura 12 – Marcadores de Estresse Oxidativo. Oxidação de proteínas: Proteína Carbonilada no plasma (A). Controle e GMU (grupo suplementado com extrato do murici). Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo). Dosagens: Controles; 50mg/Kg; 100mg/Kg e 250mg/Kg (n=7). * $p<0,05$ versus Controle.

A concentração plasmática de proteínas carboniladas (PC) oferece informações sobre a oxidação de proteínas provocada pelos radicais livres e a sua medição é bastante usada nos

estudos envolvendo estresse oxidativo pela estabilidade das PCs (DALLE-DONNE et.al., 2006). O grupo carbonila é formado de um átomo de carbono e um átomo de oxigênio ligados por ligação dupla e está presente espontaneamente em todas as proteínas. A oxidação das proteínas se dá por introdução de grupamentos carbonila não-nativos nos aminoácidos e pode ser induzida diretamente pelas espécies reativas ou indiretamente por reação com produtos secundários do estresse oxidativo. Essa introdução excessiva de grupamentos carbonila resulta em proteínas modificadas e seu acúmulo leva a alterações da função celular (WADLEY, TURNER e ALDRED, 2016).

A suplementação com o extrato de murici nos grupos suplementados com as maiores dosagens e não submetidos ao TEM, 100GMU $7,41 \pm 2,73$ ($p=0,009$) e 250GMU $7,81 \pm 2,55$ ($p=0,01$) com relação ao Controle $13,32 \pm 5,3$ μM de proteína carbonilada/mg de proteína (fig. 12), foi capaz de reduzir os níveis de oxidação de proteínas em nível plasmático.

Não houve alteração significativa nas concentrações plasmáticas de proteínas carboniladas (PC) quando comparados os animais não-suplementados, mesmo após o TEM, Controles $11,8 \pm 8,8$ e Controle+EM $5,3 \pm 13,5$ μM de proteína carbonilada/mg de proteína ($p=0,140$). Em revisão realizada por Wadley, Turner e Aldred (2016) os autores avaliaram estudos com resultados diversos de medição de PC em humanos após exercícios extenuantes, com aumento, sem diferenças e até redução dessas concentrações, mesmo em presença do aumento de outros marcadores de EO. Os autores sugerem que dependendo da intensidade e da duração do estímulo, o sistema proteassoma que degrada proteínas modificadas, como aquelas com os grupos carbonilas, pode ser ativado levando à redução das concentrações plasmáticas de PC e a elevação dessas concentrações só pode ser identificada quando a formação de PC supera a capacidade desse sistema.

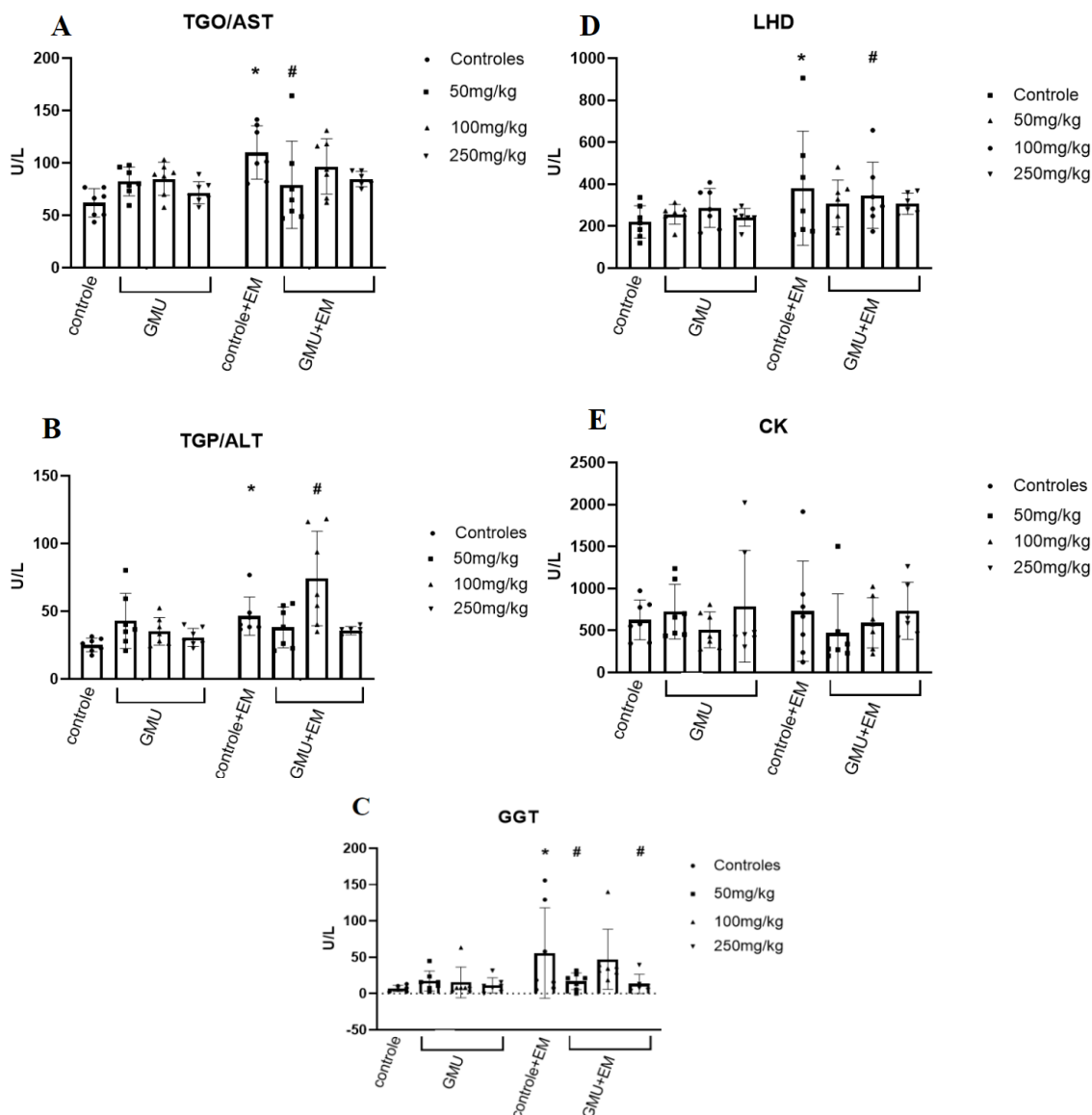


Figura 13 – Enzimas indicativas de lesão tecidual. Marcadores de lesão hepática: TGO/AST (A); TGP/ALT (B) e GGT (C). Marcadores de lesão muscular: LDH (D); CK (E). Controle e GMU (grupo suplementado com extrato do murici). Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo). Dosagens: Controles; 50mg/Kg; 100mg/Kg e 250mg/Kg (n=7). *p<0,05 versus Controle e #p<0,05 versus Controle+EM.

Para avaliação do dano hepático e muscular foi utilizada a quantificação das enzimas marcadoras de lesão tecidual no plasma (Fig. 13). Essas enzimas não possuem função no plasma e a sua presença indica lesão celular tecidual. A quantificação dessas enzimas fornece informações quanto ao tipo de tecido lesionado.

Foi observado aumento significativo da atividade de quase todas as enzimas dos animais do grupo Controle+EM: TGO $109,10 \pm 25,46$ (p=0,0002); TGP $46,39 \pm 14,11$

($p=0,02$); GGT $55,77\pm 62,19$ ($p=0,004$) e LHD $381,33\pm 271,87$ U/L ($p=0,02$) quando comparados aos resultados do grupo Controle, exceto da CK $730,95\pm 596,83$ U/L ($p=0,6$).

Houve redução nas atividades enzimáticas na TGO dos grupos 50GMU+EM $79,07\pm 41,69$ ($p=0,0122$) e 250GMU+EM $84,68\pm 7,22$ U/L ($p=0,046$) e na GGT dos grupos 50GMU+EM $16,96\pm 11,38$ ($p=0,017$) e 250GMU+EM $13,41\pm 13,25$ U/L ($p=0,013$) e aumento no TGP 100GMU+EM $74,2\pm 34,92$ U/L ($p=0,023$) dos grupos suplementados submetidos ao TEM quando comparado aos respectivos Controle+EM.

O aumento das EROs provocados pelo exercício agudo de alta intensidade, superando a capacidade do sistema antioxidante em neutralizar esses radicais livres, está envolvido na geração do dano celular. Os ácidos graxos poliinsaturados, que compõem 60% das membranas celulares, sofrem degradação peroxidativa lipídica causando alterações na estrutura da membrana afetando a estrutura e a função celular (PEREIRA et al., 2014).

O aumento dos marcadores de dano celular hepático e muscular plasmáticos era esperado após o exercício intenso. O local de maior atividade da TGP é o fígado, assim como a GGT, já as enzimas TGO e LDH estão presentes em diversos tecidos como coração, fígado e músculo esquelético. A CK é encontrada em altas concentrações no músculo esquelético e cardíaco. Assim, é importante avaliar a atividade das enzimas em conjunto para identificar o tipo de tecido lesionado (RUHE e SUZUKI, 2020).

O aumento das enzimas LDH e CK de forma conjunta no plasma está relacionado ao dano muscular, contudo, quando somente a LDH está elevada como observado no estudo, conjuntamente com as enzimas GGT, TGO e TGP, conclui-se que o TEM está relacionado ao dano hepático nos animais do grupo Control+EM. Ramos et al. (2013) também identificaram aumento nos marcadores de dano hepático e não encontraram evidências de dano muscular, reforçando a ideia de que, nessas condições, em razão da ação do sistema antioxidante no tecido muscular esquelético, as amostras coletadas imediatamente após a sessão de exercício intenso não apresentam elevação dos marcadores de dano muscular e consequentemente de EO nos músculos.

A suplementação foi capaz de reduzir os efeitos danosos no tecido hepático provocados pelo exercício agudo nos animais tratados com as dosagens de 50mg/kg e 250mg/kg. Efeito similar ao encontrado por Elvira-Torales, García-Alonso e Periago-Castón (2019) em revisão que investigou a relação da suplementação com carotenoides, seja de maneira isolada, seja em alimentos fonte, em animais e humanos com diferentes formas de

geração de EO e concluíram que os compostos apresentaram efeitos protetores nas células hepáticas. Apesar de não encontrarem diferença significativa nos marcadores de dano hepático, Pereira et al. (2014) encontraram aumento da enzima catalase e redução do TBARS em nível hepático após a suplementação por 30 dias com blend de frutas do Norte e Nordeste do Brasil, todas ricas em compostos bioativos.

Assim como no presente estudo, Liu et al. (2005) não encontraram diferença significativa na prevenção aos danos musculares causados pelo exercício de alta intensidade após suplementação dos animais por 30 dias com tomate, fonte do antioxidante licopeno. Já Malaguti et al. (2009) identificaram redução das concentrações plasmáticas de LDH e CK em animais após exercícios intensos com a suplementação aguda do sulforafano, um suplemento com alegação de ação antioxidante, presente principalmente nos brócolis (MALAGUTI et al., 2009).

Podemos observar que o protocolo de exercício utilizado com o objetivo de induzir o estresse oxidativo foi capaz de aumentar a lipoperoxidação e as enzimas indicativas de dano celular em nível hepático, mas não foi capaz de aumentar os marcadores de LPO primários e secundários no plasma e nos músculos dos animais.

6.4. Avaliação da defesa orgânica contra o dano oxidativo

A dosagem dos tióis totais reduzidos e a atividade das enzimas antioxidantes foram utilizadas para avaliar a resposta do sistema antioxidante dos animais.

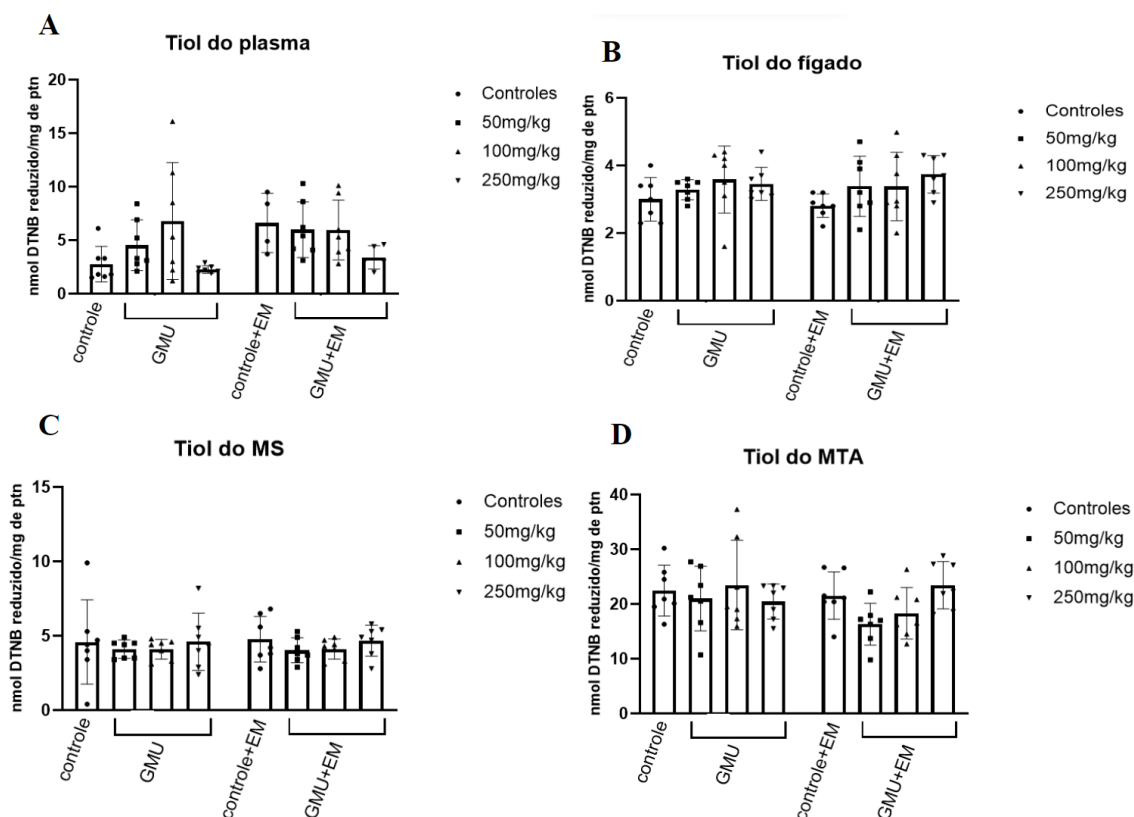


Figura 14 – Avaliação da defesa orgânica contra o dano oxidativo.. Medida dos grupos tíóis não-proteicos reduzidos: no plasma (A), fígado (B) e músculos tibial anterior (MTA) (C) e solear (MS) (D). Controle e GMU (grupo suplementado com extrato do murici). Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo). Dosagens: Controles; 50mg/Kg; 100mg/Kg e 250mg/Kg (n=7).

Não foi encontrada diferença significativa na dosagem dos tíóis totais em nenhum dos tecidos quando comparados aos grupos Controle e Controle+EM. Também não houve diferença entre os grupos suplementados, GMU ou GMU+EM, com os seus respectivos controles quanto à dosagem dos tíóis (Fig. 14).

Os tíóis são compostos que apresentam capacidade redutora determinada pelo seu grupamento sulfidril (-SH). Alguns autores classificam a dosagem de tíóis somente como um marcador de estresse oxidativo, contudo, o principal tiol não-proteico no citosol é a glutatona em seu estado reduzido, um dos mais importantes antioxidantes endógenos sistêmicos e intracelulares com papel essencial na manutenção do equilíbrio redox celular e na defesa antioxidante (FRANKENFELD, et al., 2014; KALINOVIC, et al., 2021). Os tíóis são essencialmente vulneráveis à oxidação direta pelos produtos intermediários da peroxidação lipídica das membranas celulares, provocados pelo aumento dos radicais livres. Além disso, a GPx atua enzimaticamente no grupamento sulfidril desses compostos como

agente redutor gerando a forma oxidada da glutatona, o dissulfeto GSSG, reduzindo os níveis celulares de GSH e, em consequência, os níveis de tióis reduzidos no meio intracelular (BABA e BHATNAGAR, 2018).

Zinellu et al. (2007) analisaram os níveis dos tióis reduzidos no plasma de jovens antes e após uma sessão de treinamento intensa e curta e não encontraram diferenças significativas entre a medição dos grupos tióis reduzidos nos tecidos dos grupos. Os autores concluíram que uma única sessão curta de treinamento, assim como a realizada no presente estudo não foi capaz de produzir produtos da peroxidação lipídica em quantidade suficiente para afetar a dosagem de tióis totais e causar desequilíbrio do sistema redox dos tecidos.

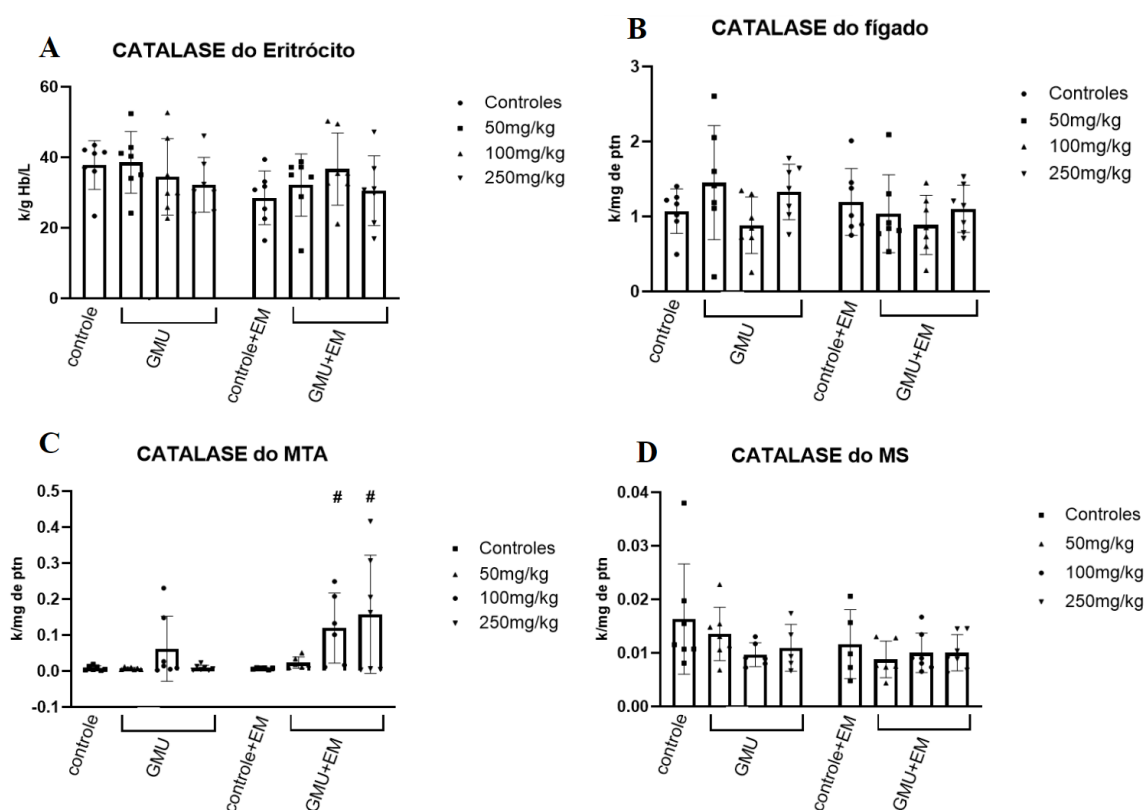


Figura 15 – Avaliação da defesa orgânica contra o dano oxidativo. Medida da atividade da Enzima Catalase no plasma (A), fígado (B) e músculos tibial anterior (MTA) (C) e solar (MS) (D). Controle e GMU (grupo suplementado com extrato do murici). Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo). Dosagens: Controles; 50mg/Kg; 100mg/Kg e 250mg/Kg (n=7). #p<0,05 versus Controle+EM.

Foi possível observar no músculo tibial anterior (MTA) aumento da atividade da catalase nos grupos dos animais suplementados e submetidos ao TEM nos grupos 100GMU+EM $0,12 \pm 0,1$ ($p=0,013$) e 250GMU+EM $0,16 \pm 0,16$ ($p<0,001$) quando

comparado com o Controle+EM $0,007\pm 0,002$ k./mg de proteína. Mas não foi encontrada diferença significativa na medição da atividade da catalase em nenhum dos tecidos quando comparados aos grupos Controle e Controle+EM. Contudo,

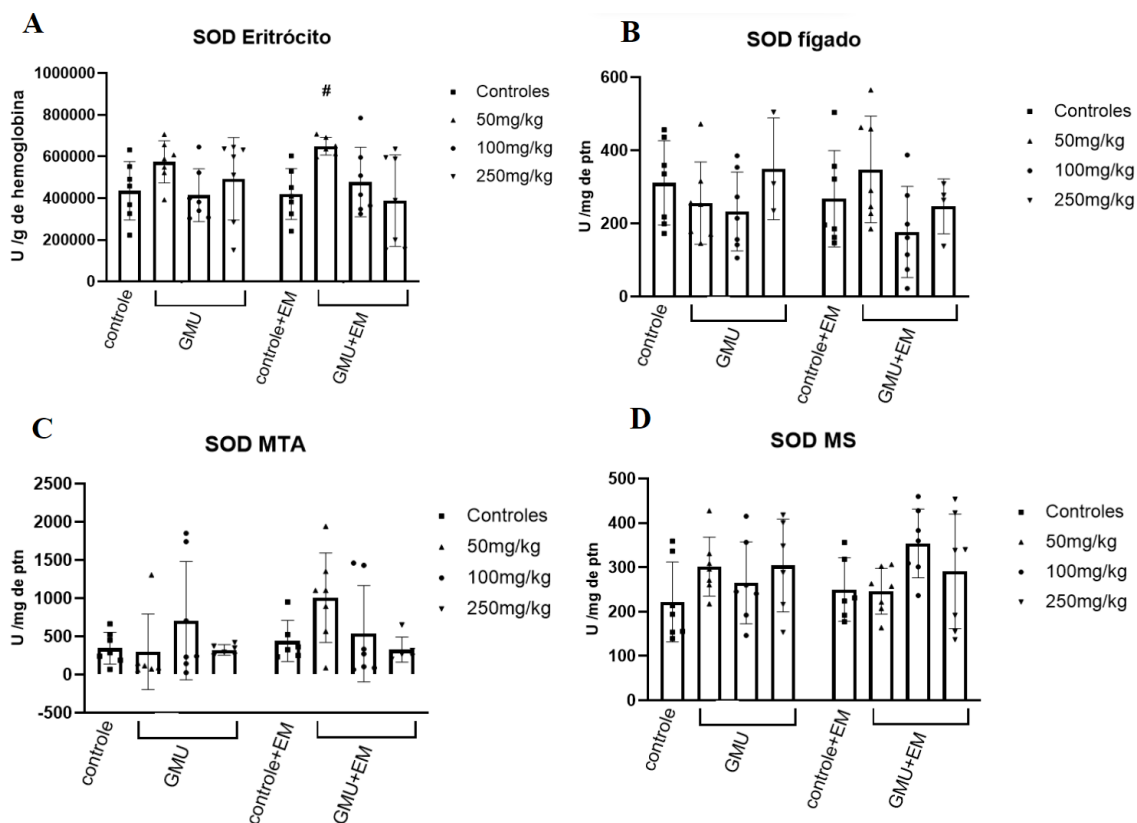


Figura 16 – Avaliação da defesa orgânica contra o dano oxidativo. Medida da atividade da Enzima Superóxido Dismutase (SOD) no plasma (A), fígado (B) e músculos tibial anterior (MTA) (C) e solear (MS) (D). Controle e GMU (grupo suplementado com extrato do murici). Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo). Dosagens: Controles; 50mg/Kg; 100mg/Kg e 250mg/Kg (n=7). #p<0,05 versus Controle+EM.

Assim como nas dosagens de defesa orgânica anteriores, não foi observada diferença significativa na medição da atividade da SOD em nenhum dos tecidos quando comparados aos grupos Controle e Controle+EM.

O murici, além dos compostos fenólicos, é uma fruta rica em carotenoides e vitamina C, conhecidos antioxidantes não-enzimáticos, a suplementação do extrato liofilizado foi capaz de aumentar a atividade das enzimas CAT no MTA nas dosagens 100mg/kg e 200mg/kg e da SOD no eritrócito mesmo na menor dosagem, 50mg/kg, 50GMU+EM $649014,69\pm 43046,75$ ($p<0,01$) quando comparado com seu Controle+EM

419661,66±121841,68 U SOD/g de hemoglobina, sugerindo que o extrato apresenta efeitos positivos no sistema antioxidante dos animais tratados.

A SOD e a CAT fazem parte da primeira linha do sistema de antioxidante enzimático, o aumento dessas enzimas pode ser traduzido como aumento da resposta antioxidante do organismo. Perez-Gutierrez et al. (2010) trataram com 300mg/kg de extrato da fruta do murici por 24 dias animais portadores de diabetes induzida e o extrato foi capaz de aumentar as dosagens de SOD e CAT no fígado dos animais, efeito não observado no presente estudo.

Yada et al. (2019) também encontraram aumento da atividade da SOD após o exercício no músculo esquelético e no fígado após suplementação com extrato de polifenóis extraído de uma planta leguminosa, a *Acacia catechu*. Hong et al. (2015) analisaram os resultados das enzimas antioxidantes endógenas no plasma após a suplementação com pó de melancia em ratos alimentados com dieta potencialmente aterogênica. Os autores teorizaram que os altos teores de carotenoides na fruta podem ter contribuído para o aumento dessas enzimas, visto que, esses compostos bioativos possuem a capacidade de degradar as EROs.

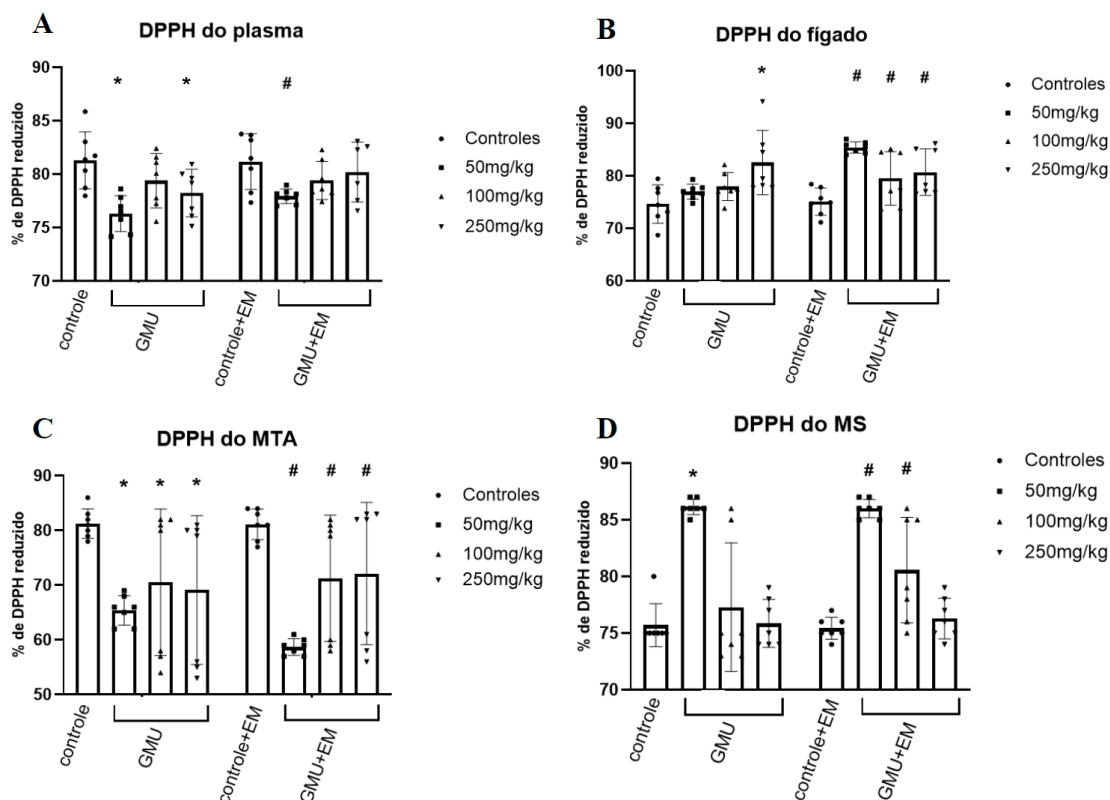


Figura 17– Capacidade antioxidante total (CAOT) medida no plasma (A), no fígado (B) e nos tecidos musculares tibial anterior (C) e solear (D). Controle e GMU (grupo suplementado com extrato do murici Controle+EM e GMU+EM (grupo suplementado com extrato do murici e submetido ao teste de esforço máximo). Dosagens: Controles; 50mg/Kg; 100mg/Kg

e 250mg/Kg (n=7). *p<0,05 versus Controle e #p<0,05 versus Controle+EM.

A capacidade antioxidante total no plasma e nos tecidos foi avaliada através do método baseado na capacidade dos antioxidantes em doar elétrons e assim reduzir os radicais DPPH e manter o equilíbrio redox. Assim, quanto maior a quantidade e capacidade dos antioxidantes da amostra, maior a quantidade de DPPH reduzido. Os resultados obtidos estão representados na figura 17.

A decomposição do DPPH ocorre por substâncias antioxidantes como GSH, vitaminas, minerais e enzimas que compõem as amostras analisadas. O método não é muito utilizado em amostras biológicas, pois as proteínas presentes neste tipo de amostra podem ser precipitadas pelo uso do reagente alcoólico e interferir na leitura da absorbância, contudo, foi utilizado no presente estudo a metodologia proposta por Chrzczanowicz et al. (2008) em que as amostras foram previamente desproteinizadas. Assim, Janaszewska; Bartosz (2002) afirmam que se as condições experimentais forem atendidas, é um método simples, de baixo custo e eficiente para comparações entre grupos de amostras.

Além disso, Chrzczanowicz et al. (2008) alertam para a importância de utilizar o método perante a possibilidade de comparação com um grupo controle/placebo, visto que, a frutose (monossacarídeo presente nas frutas) aumenta o ácido úrico no plasma. O ácido úrico é um antioxidante endógeno que pode decompor o DPPH podendo influenciar a avaliação da decomposição pelo composto antioxidante estudado.

Após uma sessão de exercícios físicos, espera-se a redução da CAOT em razão da elevada produção de radicais livres provocada pela contração muscular e atividade do sistema antioxidante em reduzir essas EROs (POWERS, RADAK e JI, 2016). Contudo, no presente estudo, não foi identificada a redução do CAOT em nenhum dos tecidos (plasma, músculos e fígado) após o episódio de exercício de esforço máximo (Controle+EM) quando comparados com os respectivos grupos controle, mesmo resultado encontrado no estudo de Ramos et al. (2013), onde os autores sugerem que a curta duração do protocolo de atividade utilizado por eles não foi capaz de gerar uma resposta do sistema antioxidante. A hipótese dos autores condiz com os achados do presente estudo em relação à atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT que também não sofreram alterações na comparação do grupo Controle e Controle+EM.

Entretanto, no plasma do grupo não submetido ao exercício, a suplementação do extrato do murici nas concentrações de 50mg/kg $76,31 \pm 1,68$ (p=0,0001) e 250mg/kg

78,23±2,22 (p=0,0131) foram significativamente menores que a do grupo Controle 81,29±2,67 % de DPPH reduzido, assim como, os resultados do 50GMU+EM 77,93±0,68 (p<0,01) com relação ao Controle+EM 81,17±2,60 % de DPPH reduzido. No MTA a redução do DPPH também foi consideravelmente menor que os respectivos controles em todas as concentrações do extrato: Controle 81,28±2,69; 50GMU 65,43±2,70 (p=0,002); 100GMU 70,57±13,39 (p=0,036); 250GMU 69,14±13,58 % de DPPH reduzido (p=0,018) e Controle+EM 81,14±2,79; 50GMU+EM 58,71±1,50 (p<0,0001); 100GMU+EM 71,28±11,54 (q<0,1 e p=0,053); 250GMU+EM 72,14±13,00% de DPPH reduzido (q<0,1 e p=0,0762). Esses resultados indicam redução da CAOT nesses tecidos, em contraste com os achados de Hong et al. (2015) que encontraram aumento da CAOT plasmática nos animais suplementados com melancia em pó por 30 dias quando comparados ao grupo controle, mas não no grupo com dieta aterogênica e suplementação, apesar de, neste último grupo, ter sido evidenciado redução das TBARS (marcador de EO) e, conforme já mencionado, aumento da SOD e CAT plasmáticas, tornando evidente que os efeitos da suplementação com antioxidantes na CAOT precisam ser melhor elucidados.

Mesma conclusão da extensa revisão realizada por Manson et al. (2020) sobre os efeitos da suplementação de antioxidantes. Os autores elencam os efeitos da suplementação com os compostos antioxidantes naturais mais estudados nos marcadores de balanço redox. Com relação às pesquisas com vitamina C, polifenóis e β -caroteno, os autores sinalizam que apesar de possuírem efeitos potentes na eliminação de EROs *in vitro*, os efeitos desses compostos *in vivo* ainda carecem de mais pesquisas em razão da biodisponibilidade e dos mecanismos de transcrição de genes relacionados ao balanço redox.

Já com relação aos resultados no fígado e MS foi possível identificar aumento da CAOT em todos os grupos suplementados com o extrato do murici. No MS o aumento significativo na CAOT dos animais foi identificado no grupo 50GMU 86,14±0,69 (p<0,0001) com relação ao Controle 75,71±1,89 e dos grupos com TEM: 50GMU+EM 86±0,82 (p <0,0001) e 100GMU+EM 80,57±4,64 % de DPPH reduzido (p=0,0017).

No fígado, o aumento foi significativo nos grupos: 250GMU 82,52±6,11 (p=0,003) com relação ao Controle 74,63±3,64 e de todos os grupos com EM: 50GMU+EM 85,41±1,07 (p <0,0001); 100GMU+EM 79,51±5,08 (p=0,03); 250GMU+EM 80,70±4,43 (p=0,0074) com relação ao Controle+EM 75,07±2,59 % de DPPH reduzido. Lucena et al. (2022) encontraram resultados similares na resposta hepática com a suplementação do cajá,

fruto do cajazeiro, espécie de árvores frutífera também bastante comum nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, com composição de compostos fenólicos similar ao murici, com maior teor de vitamina C e menor atividade antioxidante *in vitro*, que foi eficiente em aumentar a capacidade antioxidante total desse tecido em animais alimentados com dieta rica em gorduras após 2 semanas de suplementação.

Neste estudo, consideramos que os resultados reforçam a eficácia do extrato do murici como antioxidante no fígado, principalmente nas concentrações de 50mg/kg e 250mg/kg e na melhora da capacidade antioxidante total no músculo solear nas concentrações de 50mg/kg e 100mg/kg. Curiosamente, nas mesmas concentrações, foram observados resultados diferentes no balanço oxidativo no músculo tibial anterior, onde a suplementação atuou de forma prejudicial. No plasma os resultados foram contrastantes apresentando redução na oxidação de proteínas e redução da CAOT.

Em nível plasmático, a suplementação com as maiores concentrações, 100mg/kg e 250mg/kg, foram capazes de reduzir a oxidação de proteínas, mas esse efeito não manteve relação com o sistema oxidativo que apresentou redução na CAOT nos grupos 50mg/Kg e 250mg/Kg sem TEM.

Os animais submetidos ao TEM e suplementados com a menor dosagem também apresentaram melhor resposta da enzima de primeira linha do sistema antioxidante enzimático com aumento da SOD no plasma, contudo, de maneira contraditória, no mesmo grupo foi identificada redução na capacidade antioxidante total sem redução dos tióis totais e catalase.

No músculo tibial anterior, tecido mais exigido nos animais submetidos ao TEM, a suplementação com o extrato do murici nas menores concentrações, 50 e 100mg/kg, foram relacionadas ao aumento dos hidroperóxidos lipídicos, em contrapartida, no mesmo grupo as concentrações de 100 e 250mg/kg foram responsáveis pelo aumento dos níveis da catalase. Em todas as concentrações de ambos os grupos foi observada redução da capacidade antioxidante total no tecido. Esses resultados indicam que o extrato pode estar relacionado com indução de toxicidade no MTA e atuou como um pró-oxidante, contrastando com os resultados *in vitro* que indicam que o extrato possui alta capacidade antioxidante e é rico nos principais antioxidantes alimentares como compostos fenólicos, vitamina C e carotenoides.

A suplementação do extrato do murici com 50mg/kg (menor dosagem) e 250mg/kg (maior dosagem) demonstrou resultados satisfatórios na redução do dano celular e no aumento da capacidade antioxidante total no fígado dos animais submetidos ao TEM e, apesar de não expressivos, foi possível identificar também tendência de aumento nas dosagens dos tióis totais e da SOD, reforçando a ideia de que o extrato foi eficaz em reduzir a peroxidação dos hidroperóxidos pela melhoria da ação do sistema antioxidante nesse tecido.

Por outro lado, no músculo solear, tecido com maior potencial em neutralizar as EROs, a CAOT foi aumentada com a suplementação do extrato nas dosagens de 50mg/kg, em ambos os grupos, e na dosagem de 100mg/kg no grupo submetido ao TEM.

Além da duração do exercício citada anteriormente, o estudo apresentou algumas outras limitações. Optou-se por fornecer o extrato liofilizado diluído em água aos animais por meio de gavagem, objetivando-se interferir minimamente na capacidade antioxidante do extrato no momento da diluição, contudo, em razão do alto teor de lipídios do extrato, houve dificuldade na completa diluição e optou-se por realizar a suplementação com o sobrenadante da diluição e não com o extrato de forma integral, o que pode ter reduzido a ingestão de compostos antioxidantes.

As medições dos marcadores foram realizadas somente imediatamente após o término do exercício exaustivo agudo e alguns autores indicam o pico das alterações das enzimas antioxidantes até uma hora e o pico das análises de capacidade antioxidante total até 4 horas após a atividade física aguda (MICHAILIDIS et al., 2007).

7. CONCLUSÃO

Considerando os potenciais benefícios da utilização do produto do murici, uma fruta produzida majoritariamente de maneira sustentável e pela agricultura familiar, fonte de compostos bioativos e vitaminas antioxidantes, e os resultados encontrados em nossa pesquisa indicando que o extrato da fruta possui efeitos protetivos na oxidação de proteínas, na redução do dano celular hepático, aumento na atividade de enzimas antioxidantes e na capacidade antioxidante total, com potencial impacto positivo na saúde dos consumidores, sugerimos mais estudos com o extrato do fruto em protocolos de indução de estresse oxidativo com o intuito de elucidar os mecanismos de ação plasmáticos, nos músculos e em outros tecidos a fim de utilizá-lo como um recurso não farmacológico no combate a doenças crônicas.

8. PRODUTO(S) GERADO PELO ESTUDO

8.1. Capítulo de livro

CINTRA, Audrey; MARTINEZ, Raquel; SOUTO, Renata N.; ELIAS, Marcus Vinícius. Alimentação no lar e Receitas em Tempos de Pandemia. *In*: DOLINSKY, Manuela; VAZ, Fernanda. **Nutrição em tempos de Pandemia**. Rio de Janeiro: Payá, 2021, p.288.

8.2. Artigos publicados

BRANDÃO, Thalita V.; **CINTRA, Audrey**; SOUZA, Pedro R.; FIALHO, Eliane; OLIVEIRA, Nathália; CIARELLI, Gustavo; SOUTO, Renata M.; DOLINSKY, Manuela. Concentração de polifenóis no abacaxi pérola, banana prata, mamão Papaia e melancia orgânicos e convencionais. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 5, p. 5092-15108, 2020.

8.3. Artigo submetido em revista científica

GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE, Cassiano S.; MARTINEZ, Raquel; **CINTRA, Audrey**; ALMEIDA, Carolina; LIMA, Thuane; SOUZA, Isabelle; ALMEIDA, Matheus; FRANKENFELD, Stephan; CAHUÊ, Fábio; SALERNO, Verônica; SILVA, Adriana; DOLINSKY, Manuela; TEODORO, Anderson. Bioactive properties of Murici (*Bysonima crassifolia*) and Bacuri (*Plantonia insignis*) and their antioxidant and anti-inflammatory effects in rats. **The European Journal of Pharmacology**.

8.4. Curso de curta duração

CINTRA, Audrey. Frutas Brasileiras. Curso ministrado aos alunos de Graduação do Curso de Nutrição/UFF com duração de 4h em 23 de novembro de 2022.

8.5. Oficina tendo como público mulheres atendidas no Ambulatório de Dietética e Alimentos Funcionais – UFF.

Oficina – Conhecimentos e receitas com frutas ricas em compostos fenólicos – na oficina serão apresentadas algumas frutas ricas em compostos fenólicos para o grupo de voluntárias do Ambulatório de Dietética e Alimentos Funcionais da UFF, informando seus benefícios e exemplificando formas de consumo, com desenvolvimento de receitas para incentivar o consumo das frutas na alimentação das participantes. Previsão: 21 de junho de 2023.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, D. S. P.; DE SENA, K. C. M. Biomarcadores de peroxidação lipídica na aterosclerose. **Revista de Nutrição**, v. 21, n.6, 2008, 749–756.
- ACCATTATO, F., GRECO, M., PULLANO, S. A., CARÈ, I., FIORILLO, A. S., PUJIA, A., ... & GULLETTA, E. Effects of acute physical exercise on oxidative stress and inflammatory status in young, sedentary obese subjects. **PloS one**, v. 12, n. 6, p. e0178900, 2017.
- AEBI, Hugo. “[13] Catalase in Vitro.” **Methods in Enzymology**, vol. 105, 1984, pp. 121–126.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrados: espécies vegetais úteis**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 1998. 464 p.
- ANICETO, A., MONTENEGRO, J., CADENA, R. da S., TEODORO, A. J. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, and sensory properties of murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) and taperebá (*Spondias mombin* L.) beverages. **Molecules**, v. 26, n. 2, p. 332, 2021.
- ANICETO, A., PORTE, A., MONTENEGRO, J., CADENA, R. S., e TEODORO, A. J. A review of the fruit nutritional and biological activities of three Amazonian species: Bacuri (*Platonia insignis*), murici (*Byrsonima* spp.), and taperebá (*Spondias mombin*). **Fruits**, v. 72, n.5, p.317–326, 2017.
- APAK, Reşat. Current issues in antioxidant measurement. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 33, p. 9187-9202, 2019.
- ARAUJO, R. R. de; SANTOS, E. D.; FARIAS, D. B. S.; LEMOS, E. E. P. de; ALVES, R. E. *Byrsonima crassifolia* e *B. verbascifolia*: murici. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2018. cap. 5 p. 137-146
- ASMAT, Ullah; ABAD, Khan; ISMAIL, Khan. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. **Saudi pharmaceutical journal**, v. 24, n. 5, p. 547-553, 2016.
- AUNE D, KEUM N, GIOVANNUCCI E, FADNES LT, BOFFETTA P, GREENWOOD DC, TONSTAD S, VATTEN LJ, RIBOLI E, NORAT T. Dietary intake and blood concentrations of **Antioxidants** and the risk of cardiovascular disease, total cancer, and all-cause mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **Am J Clin Nutr**. 108(5), 1069–1091, 2018.
- BABA, Shahid P.; BHATNAGAR, Aruni. Role of thiols in oxidative stress. **Current opinion in toxicology**, v. 7, p. 133-139, 2018.
- BAKER, Mary Ann; HORVATH, Steven M. Influence of water temperature on oxygen uptake by swimming rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 19, n. 6, p. 1215-1218, 1964.
- BANNISTER, J. V; L CALABRESE. Assays for Superoxide Dismutase. **Methods of Biochemical Analysis**, vol. 32, pp. 279–313, 1987,
- BARBOSA, K. B. F., COSTA, N. M. B., ALFENAS, R. D. C. G., DE PAULA, S. O., MINIM, V. P. R., & BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, 23, p.629-643, 2010.

- BARRETO, A.P.M, FERREIRA, C.C.D., FERNANDES, J., SOARES, L.R. Bases e princípios da nutrição funcional. In: DOLINSKY, Manuela. **Nutrição Funcional**. 2a ed., São Paulo: Payá, 2018. p.1-29.
- BELVIRANLI, M., GÖKBEL, H., OKUDAN, N., & BAŞARALI, K. Effects of grape seed extract supplementation on exercise-induced oxidative stress in rats. **British Journal of Nutrition**, v.108, n.2, p. 249–256.
- BENJAMINI, Y., KRIEGER, A. M. & YEKUTIELI, D. Adaptive linear step-up procedures that control the false discovery rate. **Biometrika** 93, p.491–507, 2006.
- BJELAKOVIC, G., NIKOLOVA, D., GLUUD, L. L., SIMONETTI, R. G., and GLUUD, C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention - Systematic review and meta-analysis. **J. Am. Med. Assoc.** 297, p.842–857, 2007.
- BLOEDON, T. K.; BRAITHWAITE, R. E; CARSON, I. A.; KLIMIS-ZACAS, D.; LEHNHARD, R. A. Impact of anthocyanin-rich whole fruit consumption on exercise-induced oxidative stress and inflammation: A systematic review and meta-analysis. **Nutrition Reviews**, v. 77, n. 9, p. 630-645, 2019.
- BLOOMER, RICHARD J.; GOLDFARB, ALLAN H.; MCKENZIE, MICHAEL J. Oxidative Stress Response to Aerobic Exercise: Comparison of Antioxidant Supplements. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. V. 38 - 6, p. 1098-1105, 2006.
- BÖHM, V., LIETZ, G., OLMEDILLA-ALONSO, B., PHELAN, D., REBOUL, E., BÁNATI, D., BOREL, P., CORTE-REAL, J., de LERA, A. R., DESMARCHELIER, C., DULINSKA-LITEWKA, J., LANDRIER, J.-F., MILISAV, I., NOLAN, J., PORRINI, M., RISO, P., ROOB, J. M., VALANOU, E., WAWRZYNIAK, A., BOHN, T. From carotenoid intake to carotenoid blood and tissue concentrations—implications for dietary intake recommendations. **Nutrition Reviews**, v. 79, n. 5, p. 544-573, 2021.
- BOLAÑOS, Marco Antonio Cossio; DE ARRUDA, Miguel. Velocidade de crescimento a partir do peso corporal de ratos machos Wistar. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 3, n. 18, 2009.
- BONITA, Ruth; BEAGLEHOLE, Robert. Women and NCDs: overcoming the neglect. *Global health action*, v. 7, n. 1, p. 23742, 2014.
- BORGES, P. R. S., EDELENBOS, M., LARSEN, E., HERNANDES, T., NUNES, E. E., DE BARROS Vilas Boas, E. V., & PIRES, C. R. F. The bioactive constituents and antioxidant activities of ten selected Brazilian Cerrado fruits. **Food Chemistry: X**, 14, p.100268, 2022.
- BORGES, P. R. S., EDELENBOS, M., LARSEN, E., HERNANDES, T., NUNES, E. E., de BARROS VILAS BOAS, E. V., & PIRES, C. R. F. The bioactive constituents and antioxidant activities of ten selected Brazilian Cerrado fruits. **Food Chemistry: X**, v. 14, p. 100268, 2022.
- BRAAKHUIS, Andrea J.; HOPKINS, Will G. Impact of dietary **Antioxidants** on sport performance: a review. **Sports Medicine**, v. 45, n. 7, p. 939-955, 2015.
- BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE AÇÕES PROGRAMÁTICAS ESTRATÉGICAS. **Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Mulher Princípios e Diretrizes**. Brasília: [s.n.].

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE AÇÕES PROGRAMÁTICAS ESTRATÉGICAS. **Estudo da mortalidade de mulheres de 10 a 49 anos, com ênfase na mortalidade materna: relatório final**. 1ª ed. Brasília - DF: Editora do Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2ª ed. Brasília - DF: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE.; DATASUS. Informações de Saúde - Estatísticas Vitais. Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205>>.

BURESH, Robert; BERG, Kris. A tutorial on oxidative stress and redox signaling with application to exercise and sedentariness. **Sports Medicine-Open**, v. 1, p. 1-9, 2015.

CARMONA-JIMENEZ, Yolanda, M. Valme GARCIA-MORENO, Jose M. IGARTUBURU, and Carmelo Garcia BARROSO. Simplification of the DPPH Assay for Estimating the Antioxidant Activity of Wine and Wine by-Products. **Food Chemistry**, vol. 165, 2014, p. 198–204.

CASTANHO, G. K. F. et al. Consumo de frutas, verduras e legumes associado à Síndrome Metabólica e seus componentes em amostra populacional adulta. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 2, p. 385–392, 2013.

CHILDS, A; JACOBS, C; KAMINSKI, T; HALLIWELL, B; LEEUWENBURGH, C. Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. **Free Radical Biology and Medicine**. V. 31, n. 6, p. 745-753, 2001.

CHUNG, S. C., GOLDFARB, A. H., JAMURTAS, A. Z., HEGDE, S. S., & LEE, J. O. O. H. Y. U. N. G. Effect of exercise during the follicular and luteal phases on indices of oxidative stress in healthy women. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 31, n. 3, p. 409-413, 1999.

CHRZCZANOWICZ, J., GAWRON, A., ZWOLINSKA, A., de GRAFT-JOHNSON, J., KRAJEWSKI, W., KROL, M., NOWAK, D. Simple method for determining human serum 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity—possible application in clinical studies on dietary **Antioxidants**. **Clinical Chemical Laboratory Medicine**, v. 46, n. 3, p. 342-349, 2008.

CORTE, C. L. D., DE CARVALHO, N. R., AMARAL, G. P., PUNTEL, G. O., SILVA, L. F. A., RETAMOSO, L. T., ROYES, L. F. F., BRESCIANI, G. B., DA CRUZ, I. B. M., ROCHA, J. B. T., BARRIO Lera, J. P., & SOARES, F. A. A. Antioxidant effect of organic purple grape juice on exhaustive exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v.38, n.5, p. 558–565, 2013.

DALLE-DONNE, Isabella, ROSSI, Ranieri, COLOMBO, Roberto, GIUSTARINI, Daniela, MILZANI, Aldo. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease, **Clinical Chemistry**, Volume 52, Issue 4, p. 601–623, 2006

DE ARAÚJO, R. R., DOS SANTOS, E. D., FARIAS, D. B. dos S., DE LEMOS, E. E. P., & Alves, R. E. *Byrsonima crassifolia* e *B. verbascifolia*. In L. CORADIN, J. CAMILLO, & F. G. C. PAREYN (Eds.), **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região**

Nordeste. p. 137–146, Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade, 2018.

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/191211/1/Murici.pdf>. Acessado em: 24/10/2022.

DE ARAÚJO, S. S., AIDAR, F. J., MATOS, D. G. D., SANTOS, J. L. D., Vieira SOUZA, L. M., Silva, A. N. D., ... & ESTEVAM, C. D. S. Does Croton Argyrophyllus Extract Has an Effect on Muscle Damage and Lipid Peroxidation in Rats Submitted to High Intensity Strength Exercise? **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 21, p. 4237, 2019.

DE LA ROSA, LAURA, A., MORENO-ESCAMILLA, J. O., RODRIGO-GARCÍA, J., & ALVAREZ-PARRILLA, E. Phenolic compounds. In: Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables. **Woodhead publishing**, p. 253-271, 2019.

DEMIRCI-ÇEKİÇ, S., ÖZKAN, G., AVAN, A. N., UZUNBOY, S., ÇAPANOĞLU, E., & APAK, R. Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 209, p. 114477, 2022.

DEVALARAJA, S.; JAIN, S.; YADAV, H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1856–1865, 2011.

De Ruitter, G. C., Malessy, M. J., Alaid, A. O., Spinner, R. J., Engelstad, J. K., Sorenson, E. J., ... & Windebank, A. J. Misdirection of regenerating motor axons after nerve injury and repair in the rat sciatic nerve model. **Experimental neurology**, v. 211, n. 2, p. 339-350, 2008.

DOTAN, Y; LICHTENBERG, D e PINCHUK, I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. **Progress in Lipid Research**. V. 43. n.3. 2004, p. 200-227.

DRÖGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. **Physiological Reviews**, 82(1), p.47–95, 2002.

EDGE, Ruth; TRUSCOTT, T. George. Singlet oxygen and free radical reactions of retinoids and carotenoids—a review. **Antioxidants**, v. 7, n. 1, p. 5, 2018.

EGHBALIFERIZ, Samira; IRANSHAHI, Mehrdad. Prooxidant activity of polyphenols, flavonoids, anthocyanins and carotenoids: updated review of mechanisms and catalyzing metals. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 9, p. 1379-1391, 2016.

ELLMAN, George L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 82, n. 1, p. 70-77, 1959.

ELVIRA-TORALES, L. I.; GARCÍA-ALONSO, J.; PERIAGO-CASTÓN, M. J. Nutritional importance of carotenoids and their effect on liver health: A review. **Antioxidants**, v. 8, n. 7, p. 229, 2019.

FELDMAN, Eva. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay. **AMDCC Protocols**, Version, v. 50, p. 1, 2004.

FERREIRA, Filipe; FERREIRA, Rita; DUARTE, José Alberto. Stress oxidativo e dano oxidativo muscular esquelético: influência do exercício agudo inabitual e do treino físico. **Rev Port Cien Desp** v.7, n. 2, p.257–275, 2007.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S., Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 43(1), pp.61–68, 1997.

- FIEDOR, Joanna; BURDA, Květoslava. Potential role of carotenoids as **Antioxidants** in human health and disease. **Nutrients**, v. 6, n. 2, p. 466-488, 2014.
- FORMAN, Henry Jay; MAIORINO, Matilde; URSINI, Fulvio. Signaling functions of reactive oxygen species. **Biochemistry**, v. 49, n. 5, p. 835-842, 2010.
- FORMAN, Henry Jay; ZHANG, Hongqiao. Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 20, n. 9, p. 689-709, 2021.
- FÖRSTERMANN, Ulrich; XIA, Ning; LI, Huige. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. **Circulation research**, v. 120, n. 4, p. 713-735, 2017.
- FRAGA, CG, GALLEANO, M, VERSTRAETEN, SV, OTEIZA, PI. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. **Molecular aspects of medicine**, v. 31, n. 6, p. 435-445, 2010.
- FRANKENFELD, S. P., OLIVEIRA, L. P., ORTENZI, V. H., REGO-MONTEIRO, I. C., CHAVES, E. A., FERREIRA, A. C., ... & FORTUNATO, R. S. The anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate disrupts redox homeostasis in liver, heart and kidney of male Wistar rats. **PLoS one**, v. 9, n. 9, p. e102699, 2014.
- GARCÍA-SÁNCHEZ, A. ; MIRANDA-DÍAZ, Alejandra Guillermina; CARDONA-MUÑOZ, Ernesto Germán. The role of oxidative stress in physiopathology and pharmacological treatment with pro-and antioxidant properties in chronic diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, 2020.
- GARRITANO, G.; JORGE, C.A.; GULIAS, A.P.S.M. Murici. In: VIEIRA, R.F.; AGOSTINI-COSTA, T.S.; SILVA, D.B.; SANO, S.M.; FERREIRA, F.R. **Frutas nativas da Região Centro-Oeste do Brasil**. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília-DF. 2010.
- GOLDFARB, Allan H.; MCKENZIE, Michael J.; BLOOMER, Richard J. Gender comparisons of exercise-induced oxidative stress: influence of antioxidant supplementation. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 32, n. 6, p. 1124-1131, 2007.
- GORDON, A., JUNGFER, E., da SILVA, B. A., MAIA, J. G. S., MARX, F. Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the Amazon region. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 7688-7699, 2011.
- GU, J.; GUI, Y.; CHEN, L. ; YUAN, G.; LU, H.-Z.; XU, X. Use of natural products as chemical library for drug discovery and network pharmacology. **PLoS ONE**, 8(4), e62839, 2013.
- HAIDA, Zainol; HAKIMAN, Mansor. A comprehensive review on the determination of enzymatic assay and nonenzymatic antioxidant activities. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 5, p. 1555-1563, 2019.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**, 4th ed.; Clarendon: Oxford, U.K., 2007
- HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231-255, 2004.
- HALLIWELL, Barry. Free radicals and **Antioxidants**: a personal view. **Nutrition reviews**, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.

HALLIWELL, Barry. Free radicals and **Antioxidants**: updating a personal view. **Nutrition reviews**, v. 70, n. 5, p. 257-265, 2012.

HALLIWELL, Barry. The antioxidant paradox: less paradoxical now?. **British journal of clinical pharmacology**, v. 75, n. 3, p. 637-644, 2013.

HALLIWELL, Barry. Free Radicals and Other Reactive Species in Disease. In: **eLS**. John Wiley & Sons Ltd: Chichester, pp. 1–9, 2015.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John MC. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford university press, USA, 2015.

HAMACEK, Fabiana R.; MARTINO, Hércia SD; PINHEIRO-SANT'ANA, Helena M. Murici, fruit from the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: physical and physicochemical characteristics, and occurrence and concentration of carotenoids and vitamins. **Fruits**, v. 69, n. 6, p. 459-472, 2014.

HAYES, J.D., DINKOVA-KOSTOVA, A.T.; TEW, K.D. Oxidative Stress in Cancer. **Cancer cell**, 38(2), p.167–197, 2020.

HERMES-LIMA, Marcelo; WILLMORE, William G.; STOREY, Kenneth B. Quantification of lipid peroxidation in tissue extracts based on Fe (III) xylenol orange complex formation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 19, n. 3, p. 271-280, 1995.

HONG, M. Y., HARTIG, N., KAUFMAN, K., HOOSMAND, S., FIGUEROA, A., KERN, M. Watermelon consumption improves inflammation and antioxidant capacity in rats fed an atherogenic diet. **Nutrition Research**, v. 35, n. 3, p. 251-258, 2015.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA . **Pesquisa Nacional de Domicílios Contínua**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **PNAD Contínua - Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/habitacao/17270-pnad-continua.html>. Acesso em: 10 de abril de 2023.

IGHODARO, Osasenaga Macdonald. Molecular Pathways Associated with Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, vol. 108, p. 656–662, 2018.

IMPERATRICE, M.; CUIJPERS, I.; TROOST, F. J.; STHIJNS, M. M. J. P. E. Hesperidin Functions as an Ergogenic Aid by Increasing Endothelial Function and Decreasing Exercise-Induced Oxidative Stress and Inflammation, Thereby Contributing to Improved Exercise Performance. **Nutrients**, v.14, n.14, 2955, 2022.

JACOB, Michelle Cristine Medeiros e ARAÚJO, Fábio Resende de. Desenvolvimento de competências para Nutrição no contexto de Sistemas Alimentares Sustentáveis. **Ciência & Saúde Coletiva** [online]. 2020, v. 25, n. 11, pp. 4369-4378.

JANASZEWSKA, A.; BARTOSZ, G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 62, n. 3, p. 231-236, 2002.

JARDINE, Daniel; ANTOLOVICH, MICHAEL; PRENZLER, Paul D; ROBARDS, Kevin. Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (LC-MS) Investigation of the Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) Reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 50, no. 6, 2002, p. 1720–1724.

JIANG, Zhen-Yue; WOOLLARD, Alison CS; WOLFF, Simon P. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. **Lipids**, v. 26, n. 10, p. 853-856, 1991.

KALINOVIC S, STAMM P, OELZE M, DAUB S, KRÖLLER-SCHÖN S, KVANDOVA M, STEVEN S, MÜNDEL T, DAIBER A. Comparison of three methods for in vivo quantification of glutathione in tissues of hypertensive rats. **Free Radical Research**, v. 55, n. 11-12, p. 1048-1061, 2021.

KATTOOR, Ajoie John et al. Oxidative stress in atherosclerosis. **Current atherosclerosis reports**, v. 19, n. 11, p. 1-11, 2017.

KAZEMI, A., RYUL SHIM, S., JAMALI, N., HASSANZADEH-ROSTAMI, Z., SOLTANI, S., SASANI, N., MOHSENPOUR, M. A., FIROOZI, D., BASIRAT, R., HOSSEINI, R., CLARK, C. C. T., BABAJAFARI, S., & SOLTANMOHAMMADI, M. Comparison of nutritional supplements for glycemic control in type 2 diabetes: A systematic review and network meta-analysis of randomized trials. **Diabetes Research and Clinical Practice**, 191, p.110037, 2022.

KHOR, B.-H., TIONG, H.-C., TAN, S. C., WONG, S. K., CHIN, K.-Y., KARUPAIAH, T., IMANIRWANA, S., & ABDUL GAFOR, A. H. Effects of tocotrienols supplementation on markers of inflammation and oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **PLOS ONE**, 16(7), e0255205, 2021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255205>

KOCH, Wojciech. Dietary polyphenols—important non-nutrients in the prevention of chronic noncommunicable diseases. A systematic review. **Nutrients**, v. 11, n. 5, p. 1039, 2019.

KOHEN, Ron; NYSKA, Abraham. Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, Antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. **Toxicologic pathology**, v. 30, n. 6, p. 620-650, 2002.

KOTAS, Maya E.; MEDZHITOV, Ruslan. Homeostasis, inflammation, and disease susceptibility. **Cell**, v. 160, n. 5, p. 816-827, 2015.

KRUK, J., ABOUL-ENEIN, B. H., DUCHNIK, E., MARCHLEWICZ. Antioxidative properties of phenolic compounds and their effect on oxidative stress induced by severe physical exercise. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 72, n. 1, p. 1-24, 2022.

LICHTENBERG, Dov; PINCHUK, Ilya; WEBER, Daniela. Oxidative stress, as assayed by a single test, cannot be used as a diagnostic tool. **Biofactors**, v. 44, n. 3, p. 222-223, 2018.

LIGUORI I, RUSSO G, CURCIO F, BULLI G, ARAN L, DELLA-MORTE D, GARGIULO G, TESTA G, CACCIATORE F, BONADUCE D, ABETE P. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical interventions in aging**, v. 13, p. 757, 2018.

LIGUORI, I., RUSSO, G., CURCIO, F., BULLI, G., ARAN, L., DELLA-MORTE, D., GARGIULO, G., TESTA, G., CACCIATORE, F., BONADUCE, D.; ABETE, P. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Interventions in Aging**, Volume 13, p. 757–772, 2018.

- LIU, Rui Hai. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, 2004.
- LIU, C.-C.; HUANG, C.-C.; LIN, W.-T.; HSIEH, C.-C.; HUANG, S.-Y.; LIN, S.-J.; YANG, S.-C. Lycopene supplementation attenuated xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in skeletal muscle tissues of rats after exhaustive exercise. **British Journal of Nutrition**, v. 94, n. 4, p. 595-601, 2005.
- LOBO, R. A., DAVIS, S. R., DE VILLIERS, T. J., GOMPEL, A., HENDERSON, V. W., HODIS, H. N., ... & BABER, R. J. Prevention of diseases after menopause. **Climacteric**, v. 17, n. 5, p. 540-556, 2014.
- LUCENA, T. L. C., BATISTA, K. S., PINHEIRO, R. O., CAVALCANTE, H. C., GOMES, J. A. D. S., SILVA, L. A. D., ... & AQUINO, J. D. S. Nutritional Characterization, Antioxidant, and Lipid-Lowering Effects of Yellow Mombin (*Spondias mombin*) Supplemented to Rats Fed a High-Fat Diet. **Foods**, v. 11, n. 19, p. 3064, 2022.
- MALAGUTI, M., ANGELONI, C., GARATACHEA, N., BALDINI, M., LEONCINI, E., COLLADO, P. S., TETI, G., FALCONI, M., GONZALEZ-GALLEGO, J.; HRELIA, S. Sulforaphane treatment protects skeletal muscle against damage induced by exhaustive exercise in rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 107, n. 4, p. 1028-1036, 2009.
- MALAGUTI, M.; ANGELONI, C.; HRELIA, S. Polyphenols in exercise performance and prevention of exercise-induced muscle damage. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, 825928, 2013.
- MALTA, L. G., TESSARO, E. P., EBERLIN, M., PASTORE, G. M., & LIU, R. H. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 53, n. 1, p. 417-425, 2013.
- MARIN, Alinne MF; SIQUEIRA, Egle MA; ARRUDA, Sandra F. Minerals, phytic acid and tannin contents of 18 fruits from the Brazilian savanna. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. sup7, p. 180-190, 2009.
- MARIUTTI, L. R. B., RODRIGUES, E., & MERCADANTE, A. Z. Carotenoids from *Byrsonima crassifolia*: Identification, quantification and in vitro scavenging capacity against peroxy radicals. **Journal of Food Composition and Analysis**, 31(1), 155–160, 2013.
- MARIUTTI, Lilian RB; RODRIGUES, Eliseu; MERCADANTE, Adriana Z. Carotenoids from *Byrsonima crassifolia*: Identification, quantification and in vitro scavenging capacity against peroxy radicals. **Journal of food composition and analysis**, v. 31, n. 1, p. 155-160, 2013.
- MESQUITA, C. S., OLIVEIRA, R., BENTO, F., GERALDO, D., RODRIGUES, J. V., & MARCOS, J. C. Simplified 2, 4-dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. **Analytical biochemistry**, 458, p.69-71, 2014.
- MICHAILIDIS, Y., JAMURTAS, A. Z., NIKOLAIDIS, M. G., FATOUROS, I. G., KOUTEDAKIS, Y., PAPASSOTIRIOU, I., & KOURETAS, D. Sampling Time Is Crucial for Measurement of Aerobic Exercise-Induced Oxidative Stress. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, vol. 39, no. 7, pp. 1107–1113, 2007.
- MORAIS, M. L., SILVA, A. C. R., ARAÚJO, C. R. R., ESTEVES, E. A., DESSIMONI-PINTO, N. A. V. Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 355-360, 2013.

MORILLAS-RUIZ, JM, VILLEGAS GARCÍA, JA, LÓPEZ, FJ, VIDAL-GUEVARA, ML, ZAFRILLA, P. Effects of polyphenolic Antioxidants on exercise-induced oxidative stress. **Clinical Nutrition**, v. 25, n. 3, p. 444-453, 2006.

NALLAMUTHU, Ilaiyaraja; TAMATAM, Anand; KHANUM, Farhath. Effect of hydroalcoholic extract of Aegle marmelos fruit on radical scavenging activity and exercise-endurance capacity in mice.

Pharmaceutical Biology, v. 52, n. 5, p. 551-559, 2014.

NERI-NUMA, I. A., Soriano SANCHO, R. A., PEREIRA, A. P. A., & PASTORE, G. M. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v.103, p. 345–360, 2018.

NOLAND, D. Inflamação e Fisiopatologia da Doença Crônica. In: MAHAN, L.K. RAYMOND, J. L. (Ed.). **Krause alimentos, nutrição e dietoterapia**. Versão dig ed. Rio de Janeiro - RJ: Elsevier, 2018. p. p.152-229.

OMS, O. M. DA S. **Mulheres e saúde: evidências de hoje, agenda de amanhã**. [s.l: s.n.].

PAIM, T. Influência de extratos de murici e taperebá em linhagem celular humana de adenocarcinoma de próstata PC-3. **Dissertação de Mestrado do Programa de Pós - Graduação em Alimentos e Nutrição**. Universidade Federal Do Estado Do Rio De Janeiro, 2019.

PEREIRA, A. C. da S., DIONÍSIO, A. P., WURLITZER, N. J., ALVES, R. E., BRITO, E. S. de, SILVA, A. M. de O. e, BRASIL, I. M., & MANCINI FILHO, J. Effect of antioxidant potential of tropical fruit juices on antioxidant enzyme profiles and lipid peroxidation in rats. **Food Chemistry**, v.157, p. 179–185, 2014.

PÉREZ-GÁLVEZ, Antonio; VIERA, Isabel; ROCA, María. Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. **Antioxidants**, v. 9, n. 6, p. 505, 2020.

PEREZ-GUTIERREZ, R. M., MUÑIZ-RAMIREZ, A., GOMEZ GOMEZ, Y., & BAUTISTA RAMÍREZ, E. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antiglycation effects of *Byrsonima crassifolia* fruit and seed in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Plant foods for human nutrition**, v. 65, n. 4, p. 350-357, 2010.

PICARD, M., HEPPLER, R. T., & BURELLE, Y. Mitochondrial functional specialization in glycolytic and oxidative muscle fibers: tailoring the organelle for optimal function. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v.302, n.4, C629–C641, 2012.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena; POP, Aneta. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015.

POWERS, Scott K.; RADAK, Zsolt; JI, Li Li. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. **The Journal of physiology**, v. 594, n. 18, p. 5081-5092, 2016.

RADAK, Zsolt et al. Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. *Journal of applied physiology*, v. 79, n. 1, p. 129-135, 1995.

RAMOS, D., MARTINS, E. G., VIANA-GOMES, D., CASIMIRO-LOPES, G., SALERNO, V. P. Biomarkers of oxidative stress and tissue damage released by muscle and liver after a single bout of swimming exercise. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 38, n. 5, p. 507-511, 2013.

RICKARDS, L., LYNN, A., HARROP, D., BARKER, M. E., RUSSELL, M., & RANCHORDAS, M. K. Effect of polyphenol-rich foods, juices, and concentrates on recovery from exercise induced muscle damage: A systematic review and meta-analysis. **Nutrients**, v. 13, n. 9, p. 2988, 2021.

ROVER Júnior, L., HÖEHR, N. F., VELLASCO, A. P., & KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, 24(1), p. 112-119, 2001.

RUHEE, R. T., Ma, S.; SUZUKI, K. Protective Effects of Sulforaphane on Exercise-Induced Organ Damage via Inducing Antioxidant Defense Responses. **Antioxidants**, 9(2), p. 136, 2020.

SIES, H. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. **Antioxidants**, v.9, n.9, p:1-6, 2020.

SILVA, S. Árvores nativas do Brasil. vol. 1. São Paulo: Editora Europa, 2013.

SILVA, M. G. D., BARBOSA, S. L. F., SILVA, D. S., BEZERRA, I. B. M., ALVES BEZERRA, É., COELHO, A. G., ... & ARCANJO, D. D. R. Bioactive Natural Products against Systemic Arterial Hypertension: A Past 20-Year Systematic and Prospective Review. Evidence-Based Complementary and **Alternative Medicine**, v. 2022, 2022.

SOUSA, M. S. B., HOLANDA, I. M. S. de, MONTEIRO, H. M. C., e AMÂNCIO-DOS-SANTOS, Â. Antioxidant extract counteracts the effects of aging on cortical spreading depression and oxidative stress in the brain cortex. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 33, p. 472-482, 2018.

SOUZA, V. R. de, BRUM, M. C. M., GUIMARÃES, I. D. S., de FREITAS DOS SANTOS, P., do AMARAL, T. O., ABREU, J. P., PASSOS, T., FREITAS-SILVA, O., GIMBA, E. R. P., & TEODORO, A. J. Amazon fruits inhibit growth and promote pro-apoptotic effects on human ovarian carcinoma cell lines. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, p. 707, 2019.

STAFUSSA, A. P., MACIEL, G. M., RAMPAZZO, V., BONA, E., MAKARA, C. N., JUNIOR, B. D., & HAMINIUK, C. W. I. Bioactive compounds of 44 traditional and exotic Brazilian fruit pulps: phenolic compounds and antioxidant activity. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 106-118, 2018.

SUZUKI, K., NAKAJI, S., YAMADA, M., LIU, Q., KURAKAKE, S., OKAMURA, N., et al. 2003. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 35, n. 2, p. 348-355, 2003.

TACO - **Tabela brasileira de composição de alimentos** / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.. - Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011, p.161

TEODORO, Anderson Junger. Bioactive compounds of food: their role in the prevention and treatment of diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, 2019.

THIRUPATHI, A., WANG, M., LIN, J. K., FEKETE, G., ISTVÁN, B., BAKER, J. S., & GU, Y. Effect of Different Exercise Modalities on Oxidative Stress: A Systematic Review. **BioMed Research International**, 1-10, 2021.

TIBURSKI, J. H. et al. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2326-2331, 1 ago. 2011.

TOMINAGA, Takaki; MA, Sihui; SUGAMA, Kaoru; KANDA, Kazue; OMAE, Chiaki; CHOI, Wonjun; HASHIMOTO, Shunsuke; AOYAMA, Katsuhiko; YOSHIKAI, Yasunobu; and SUZUKI, Katsuhiko. Changes in Urinary Biomarkers of Organ Damage, Inflammation, Oxidative Stress, and Bone Turnover Following a 3000-m Time Trial. **Antioxidants** vol. 10, no. 1, p. 79, 2021.

UGWOR, E. I., UGBAJA, R. N., JAMES, A. S., DOSUMU, O. A., THOMAS, F. C., EZENANDU, E. O., & GRAHAM, R. E. Inhibition of fat accumulation, lipid dysmetabolism, cardiac inflammation, and improved nitric oxide signalling mediate the protective effects of lycopene against cardio-metabolic disorder in obese female rats. **Nutrition Research**, 104, 140–153. 2022.

VASCONCELOS, S. M. L., GOULART, M. O. F., MOURA, J. B. D. F., MANFREDINI, V., BENFATO, M. D. S., & KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química nova**, 30, 1323-1338, 2007.

VAZIRI, N. D, DICUS M, HO ND, BOROUJERDI-RAD L, SINDHU RK. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. **Kidney Int**, v. 63, p. 179-185, 2003.

WADLEY, A. J., TURNER, J. E., & ALDRED, S. Factors influencing post-exercise plasma protein carbonyl concentration. **Free Radical Research**, 50(4), 375–384, 2016.

WHO | **Global status report on noncommunicable diseases** 2014. WHO. [s.l.] World Health Organization, 2015.

WOLFF, Simon P. [18] Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylenol orange for measurement of hydroperoxides. In: Methods in enzymology. **Academic Press**, 1994. p. 182-189.

YADA, K., ROBERTS, L. A., OGINOME, N., SUZUKI, K. Effect of acacia polyphenol supplementation on exercise-induced oxidative stress in mice liver and skeletal muscle. **Antioxidants**, v. 9, n. 1, p. 29, 2019.

YOUNG, Andrew J.; LOWE, Gordon L. Carotenoids—antioxidant properties. **Antioxidants**, v. 7, n. 2, p. 28, 2018.

ZENG, Z., CENTNER, C., GOLLHOFER, A.; KÖNIG, D. Effects of dietary strategies on exercise-induced oxidative stress: a narrative review of human studies. **Antioxidants**, v. 10, n. 4, p. 542, 2021.

ZINELLU, A., SOTGIA, S., CARIA, M. A., TANGIANU, F., CASU, G., DEIANA, L., & CARRU, C. Effect of acute exercise on low molecular weight thiols in plasma. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 17, n. 4, p. 452-456, 2007.